ՀԱՅ-ՌՈՒՍԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ԼՐԱԲԵՐ

ՀԱՅ-ՌՈՒՍԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆԻ

ՍԵՐԻԱ

ՖԻԶԻԿԱՄԱԹԵՄԱՏԻԿԱԿԱՆ ԵՎ
ԲՆԱԿԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ

№ 1

ՀՌՀ Հրատարակչություն

Երևան 2019

РОССИЙСКО-АРМЯНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

В Е С Т Н И К

РОССИЙСКО-АРМЯНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА

СЕРИЯ:

ФИЗИКО-МАТЕМАТИЧЕСКИЕ И ЕСТЕСТВЕННЫЕ НАУКИ

№1

Издательство РАУ

Ереван 2019

Печатается по решению Ученого совета РАУ

Вестник РАУ, № 1. – Ер.: Изд-во РАУ, 2019. – 154 с.

Журнал входит в перечень периодических изданий,
зарегистрированных ВАК РА и РИНЦ

Российско-Армянский университет, 2019 г.

ISBN 1829-0450

МАТЕМАТИКА И ИНФОРМАТИКА

УДК 519.6:537.84

Поступила: 26.02.2019г.
Сдана на рецензию: 29.02.2019г.
Подписано к печати: 11.03.2019г.

О РАЗРЕШИМОСТИ УРАВНЕНИЯ БОЛЬЦМАНА В РАМКАХ МОДИФИЦИРОВАННОЙ БГК МОДЕЛИ*

А.Х. Хачатрян[1], Х.А. Хачатрян[1], А.А. Хачатрян[2]

[1]*Институт математики НАН Армении*

[2]*Национальный Аграрный Университет Армении, кафедра высшей математики и теоретической механики*

aghavard59@mail.ru, khach82@rambler.ru, hmayakk@bk.ru

АННОТАЦИЯ

В работе предложена новая модифицированная модель Бхатнагара-Гросса-Крука (БГК). Уравнение Больцмана в рамках этой модели применено к классической задаче течения газа в полупространстве. Задача сведена к системе линейных интегральных уравнений, символ которой имеет вырожденность четвертого порядка и к скалярному однородному линейному интегральному уравнению, символ которого в нуле имеет вырожденность второго порядка. Доказана конструктивная

* *Работа выполнена при финансовой поддержке ГКН МОН РА проект N-SCS18T-1A004.*

теорема существования решения однородного скалярного уравнения в пространстве функций, имеющих линейный рост в бесконечности. Доказана теорема существования решения для неоднородной системы, получаемой в рамках новой модели в пространстве ограниченных функций. Показано, что соответствующая однородная система, получаемая в рамках БГК модели, имеет решение в пространстве функций с асимптотикой $O(x)$ при $x \to \infty$. Качественное различие между решениями обусловлено введением новой модели, которая является возмущением БГК модели.

Ключевые слова: модельное уравнение Больцмана, факторизация, символ оператора, линеаризация, система интегральных уравнений.

Введение

В основе кинетической теории газов лежит нелинейное интегро-дифференциальное уравнение Больцмана. Сложная структура истинного интеграла столкновений практически не дает возможности исследовать вопросы разрешимости уравнения Больцмана. Поэтому часто истинный интеграл столкновений уравнения Больцмана заменяют его моделями. Впервые в 1954 году Бхатнагаром-Гроссом-Круком (БГК) и, независимо от них, в то же самое время Веландером была предложена модель, которая сохраняет основные свойства истинного интеграла столкновений: в частности, законы сохранения и известная Н-теорема Больцмана (см [1,2]).

В дальнейшем были предложены различные модифицированные модели, среди которых особое место занимают эллипсоидально-статистическая модель (ЭС), модель Шахова, модель Лиу и др. (см. [3–8]). Каждая модель имеет свои преимущества и недостатки.

Так, например, в рамках БГК модели значение числа Прандтля равно 1, в то время как его точное значение - $\frac{2}{3}$.

В рамках модели Шахова ([4]) получается точное значение числа Прандтля, но столкновительный член знакопеременен и удовлетворяет Н-теореме приближенно, т.е. для распределений близких к локально-равновесному. ЭС модель обобщает БГК модель путем подстановки локально-анизотропного трехмерного гауссовского распределения вместо изотропного одномерного локального максвеллиана. Для ЭС модели не удается доказать или опровергнуть справедливость Н-теоремы Больцмана (см.[3]). Для других же моделей ([5–8]) столкновительный член настолько сложен, что практически невозможно найти конструктивные методы решения уравнения Больцмана в рамках этих моделей. Существуют многочисленные работы по развитию линейной теории аналитического решения уравнения Больцмана в рамках различных моделей (см. [9–12] и ссылки в них).

В настоящей работе предлагается новая модифицированная модель уравнения Больцмана. В рамках этой модели все законы сохранения выполняются, а справедливость Н-теоремы не удается ни доказать, ни опровергнуть, как и при ЭС-модели.

В рамках предложенной нами модифицированной модели рассматривается классическая задача течения газа в полупространстве, ограниченном твердой плоской стенкой. Сперва из уравнения Больцмана относительно макроскопических величин выводится основная нелинейная система интегральных уравнений. Ограничиваясь линейным приближением системы, задача сводится к системе линейных интегральных уравнений относительно температуры и плотности со знакопеременным ядром, символ которого в нуле имеет вырожденность четвертого порядка и к скалярному однородному интегральному уравнению, символ которого имеет вырожденность второго порядка. Такая высокая степень вырожденности весьма усложняет вопросы изучения и решения полученных скалярных и векторных линейных интегральных уравнений. Тем не менее, с применением метода специальной факторизации, примыкающей к методу «сдвига-альбедо» (см.[13–15]),

удается доказать существование решений вышеуказанных уравнений в классе либо ограниченных функций, либо функций с линейным ростом в бесконечности.

1. ПОСТАНОВКА ЗАДАЧИ В РАМКАХ НОВОЙ МОДЕЛИ

Пусть, полупространство $x>0$ ограничено плоской твердой стенкой, и вдоль нее по направлению OY течет газ со скоростью $\vec{u}(x)=(0,u(x),0)$. Обозначим через $f(x,\vec{s})$ функцию распределения частиц по скоростям. Из-за плоской симметрии она не зависит от y и z .Здесь $\vec{s}=(s_1,s_2,s_3)$ $(-\infty\le s_i\le+\infty,\ i=1,2,3)$ – молекулярная скорость.

В одномерном приближении уравнения Больцмана можно записать в следующем виде (см [16,17]):

$$s_1\frac{\partial f(x,\vec{s})}{\partial x}=F\left(f(x,\vec{s})\right), \tag{1.1}$$

где функция $F\left(f(x,\vec{s})\right)$, заменяющая истинный интеграл столкновений, в безразмерных единицах представляется в виде:

$$F\left(f(x,\vec{s})\right)=\vartheta(x)\left[f_0^{loc}(x,\vec{s})\left(1+\varepsilon\varphi(x,\vec{s})\right)-f(x,\vec{s})\right]. \tag{1.2}$$

Здесь $\vartheta(x)=\int\limits_{-\infty}^{\infty}\int\limits_{-\infty}^{\infty}\int\limits_{-\infty}^{\infty}f(\mathrm{x},\vec{\mathrm{p}})d^3p$ – частота столкновений, которая зависит от решения самой задачи. В уравнении (1.1) с учетом (1.2) и с переходом к новому аргументу можно избавиться от этого множителя. После полного решения задачи возвращение к исходному аргументу подробно описано в работе [18]. Поэтому, не умаляя общности, предположим, что она постоянна, и для простоты примем – равной 1. В дальнейшем убедимся, что так обстоит дело в линейном приближении.

В (1.2) введены следующие обозначения:

$$\varphi(x,\vec{s}) = \frac{(s_2 - u(x))^2}{T(x)} - \frac{(s_1^2 + s_3^2)}{2T(x)}, \tag{1.3}$$

$$f_0^{loc}(x,\vec{s}) = \frac{\rho(x)}{(\pi T(x))^{\frac{3}{2}}} e^{\frac{-(\vec{s}-\vec{u}(x))^2}{T(x)}} \text{ – локальный максвеллиан, } \tag{1.4}$$

$$\rho(\mathrm{x}) = \int_{R^3} f(\mathrm{x},\vec{\mathrm{s}}) d^3 s \,, T(x) = \frac{2}{3\rho(x)} \int_{R^3} (\vec{s} - \vec{u}(x))^2 f(x,\vec{s}) d^3 s \,,$$

$$u(x) = \frac{1}{\rho(x)} \int_{R^3} s_2 f(x,\vec{s}) d^3 s \tag{1.5}$$

– плотность , температура и скорость течения газа, соответственно. $\varepsilon \geq 0$ – числовой параметр. Случай $\varepsilon = 0$ соответствует БГК модели. Числовой параметр ε, входящий в модифицированную модель, может служить подгоночным параметром для получения значения числа Прандтля P_r, близкого к точному. Последнее может служить также оценкой точности предложенной нами модифицированной модели. В работе будет показано, что рассматриваемая задача в рамках БГК модели ($\varepsilon = 0$), и в рамках модифицированной БГК модели ($\varepsilon > 0$), имеет качественно разные решения.

Как уже отмечалось во Введении, истинный интеграл столкновений stf обладает следующими свойствами (см. [16,17]):

$$\int_{R^3} stf d^3 s = 0 \,, \int_{R^3} \vec{s} stf d^3 s = 0 \,, \int_{R^3} (\vec{\mathrm{s}} - \vec{\mathrm{u}}(\mathrm{x}))^2 stf d^3 s = 0 \,. \tag{1.6}$$

Соотношения (1.6) выражают очевидные свойства столкновений: число частиц, импульс и энергия сталкивающихся частиц не изменяются. Поэтому любая новая модель должна удовлетворять условиям (1.6).

Легко убедиться, что условия (1.6) в рамках новой модифицированной модели, задаваемой согласно (1.2), выполняются. Действительно, первое свойство (1.6) непосредственно следует из (1.2) и (1.3):

$$\int_{R^3} F(f(\mathrm{x},\vec{\mathrm{s}}))d^3s = \int_{R^3} \frac{\rho(x)e^{-\frac{(\vec{s}-\vec{u})^2}{T(x)}}}{(\pi T(x))^{\frac{3}{2}}}\left[1+\varepsilon\varphi(x,\vec{s})\right]d^3s - \int_{R^3} f(\mathrm{x},\vec{\mathrm{s}})d^3s = 0. \quad (1.7)$$

Аналогично можно убедиться в выполненииостальных условий (1.6):

2. ВЫВОД ОСНОВНЫХ УРАВНЕНИЙ

Введем следующие обозначения:

$$f^+(x,\vec{s}) = \begin{cases} f(x,s_1,s_2,s_3), & \text{если } s_1 \ge 0, \\ 0, & \text{если } s_1 < 0, \end{cases}$$

$$f^-(x,\vec{s}) = \begin{cases} f(x,-s_1,s_2,s_3), & \text{если } s_1 \ge 0, \\ 0, & \text{если } s_1 < 0. \end{cases} \quad (2.1)$$

К уравнению Больцмана(1.1), (1.2) присоединим следующие граничные условия:

$$f^+(0,\vec{s}) = \frac{1}{\pi^{\frac{3}{2}}}e^{-|\vec{s}|^2}, \quad f^-(x,\vec{s}) = o\left(e^{\frac{x}{s_1}}\right), \text{ когда } x \to +\infty, \quad (2.2)$$

В граничном условии (2.2) предполагается, что частицы отражаются от стенки диффузно с максвелловским распределением с температурой $T_0 = 1$ и плотностью $\rho_0 = 1$. С учетом (1.2), (2.1), из (1.1) будем иметь

$$f^+(x,\vec{s}) = c_+ e^{-\frac{x}{s_1}} + \int_0^x e^{-\frac{(x-t)}{s_1}} f_0^{loc}(\mathrm{t},\vec{s})(1+\varepsilon\varphi(\mathrm{t},\vec{s}))\frac{dt}{s_1}, \quad (2.3)$$

$$f^-(x,\vec{s}) = c_- e^{\frac{x}{s_1}} + \int_x^\infty e^{-\frac{(t-x)}{s_1}} f_0^{loc}(\mathrm{t},\vec{s})(1+\varepsilon\varphi(\mathrm{t},\vec{s}))\frac{dt}{s_1} \quad (2.4)$$

Из граничных условий (2.2) следует, что

$$c_+ = f^+(0,\vec{s}) = \frac{1}{\pi^{\frac{3}{2}}} e^{-|\vec{s}|^2}, \quad c_- = 0 . \tag{2.5}$$

Подставляя (2.3), (2.4) в (1.5) в определении $\rho(x)$, с учетом (2.2) и произведя интегрирование, будем иметь:

.

$$\rho(x) = h(x) + \int_0^\infty \Gamma(x,t,T(t))\rho(t)dt , \ x \ge 0, \tag{2.6}$$

где $h(x) = \frac{1}{\sqrt{\pi}} \int_0^\infty e^{-\frac{x}{p}} e^{-p^2} dp,$

$$\Gamma\left(x,t,T\right) = \frac{1}{\sqrt{\pi}} \int_0^\infty e^{-\frac{|x-t|}{p}} \frac{e^{-\frac{p^2}{T}}}{\sqrt{T(t)}} \left[1 + \frac{\varepsilon}{4} - \frac{\varepsilon p^2}{2}\right] \frac{dp}{p} . \tag{2.8}$$

Аналогично, с учетом (2.3), (2.4), (2.2) из второго соотношения (1.5) получим:

$$u(x)\rho(x) = \int_0^\infty \Gamma(x,t,T(t))\rho(t)\,\mathrm{u}(t)dt . \tag{2.9}$$

Наконец, подставляя (2.3), (2.4) в третье соотношение (1.5) и совершая трудоемкие, но простые выкладки, получаем следующее нелинейное интегральное уравнение для температуры:

$$T(x)\rho(x) = g(x) + \int_0^\infty W(x,t,T(t))\rho(t)dt , \tag{2.10}$$

здесь

$$g(x) = \frac{2}{3\sqrt{\pi}} \int_0^\infty e^{-\frac{x}{p}} e^{-p^2} (p^2 + 1 + u^2(x))dp , \tag{2.14}$$

$$W(x,t,T(t)) = \frac{2}{3\sqrt{\pi}} \int_0^\infty e^{-\frac{|x-t|}{p}} e^{-\frac{p}{T(t)}} \sqrt{T(t)} \left[\frac{p^2}{T(t)} + 1 + \frac{\varepsilon}{2} - \frac{\varepsilon p^2}{4T(t)} - \frac{\varepsilon p^4}{2T^2(t)}\right] \frac{dp}{p} . \tag{2.11}$$

Итак, задача свелась к изучению системы нелинейных интегральных уравнений (2.6), (2.9), (2.10) относительно макроскопических величин ρ, u, T .

3. ЛИНЕЙНОЕ ПРИБЛИЖЕНИЕ

Заметим, что соответствующий нелинейный оператор системы интегральных уравнений (2.6), (2.9), (2.10) не обладает свойством монотонности и вполне непрерывности. Последние два факты весьма усложняют построение неподвижной точки. Поэтому ниже ограничимся линейным приближением.

Искомые функции $\rho(x)$ и $T(x)$ представим в виде:

$$\rho(x) = \rho_0 + f_1(x) = 1 + f_1(x) , \quad T(x) = T_0 + f_2(x) = 1 + f_2(x) , \tag{3.1}$$

где $f_1(x)$ и $f_2(x)$ – поправки плотности и температуры соответственно, $T_0 \equiv 1$-температура стенки, $\rho_0 \equiv 1$ – плотность газа у стенки.

Разложим функции $\Gamma(x,t,T(t))$ и $W(x,t,T)$ в ряд Тейлора по третьему аргументу около нуля, ограничиваясь линейными членами по f_2. Имеем

$$\Gamma(x,t,T) \approx \frac{1}{\sqrt{\pi}} \int_0^\infty e^{-\frac{|x-t|}{s}} e^{-s^2} \left[1 + \frac{\varepsilon}{4} - \frac{\varepsilon s^2}{2} + \left(s^2 - \frac{1}{2} + \frac{3s^2\varepsilon}{4} - \frac{\varepsilon}{8} \right) f_2(t) \right] \frac{ds}{s}, \tag{3.2}$$

$$W(x,t,T) \approx \frac{2}{3\sqrt{\pi}} \int_0^\infty e^{-\frac{|x-t|}{s}} e^{-s^2} \left[s^2 + 1 + \frac{\varepsilon}{2} - \frac{\varepsilon s^2}{4} - \frac{\varepsilon s^4}{2} + \left(s^4 + \frac{s^2}{2} + \frac{1}{2} + \frac{\varepsilon}{4} + \frac{5s^2\varepsilon}{8} + \frac{\varepsilon s^4}{2} - \frac{\varepsilon s^6}{2} \right) f_2(t) \right] \frac{ds}{s}. \tag{3.3}$$

Подставляя (3.2), (3.3) в (2.10), после громоздких, но элементарных преобразований получим следующую систему линейных интегральных уравнений:

$$f_i(x) = h_i(x) + \sum_{j=1}^{2} \int_0^\infty K_{ij}(x-t) f_j(t) dt \quad x > 0; \quad i = 1,2 \tag{3.4}$$

относительно поправок плотности $f_1(x)$ и температуры $f_2(x)$

где

$$h_1(x)=\frac{\varepsilon}{2\sqrt{\pi}}\int_0^\infty e^{-\frac{x}{s}}e^{-s^2}\left(s^2-\frac{1}{2}\right)ds,\quad x\geq 0, \tag{3.5}$$

$$h_2(x)=\frac{2\varepsilon}{3\sqrt{\pi}}\int_0^\infty e^{-\frac{x}{s}}e^{-s^2}\left(\frac{s^4}{2}-\frac{s^2}{4}-\frac{1}{8}\right)ds \tag{3.6}$$

$$K_{ij}(x)=\int_0^\infty e^{-\frac{|x|}{s}}G_{ij}(s,\varepsilon)ds,\quad x>0,\ \varepsilon\geq 0,\quad i,j=1,2 \tag{3.7}$$

$$G_{11}(s,\varepsilon)=\frac{1}{\sqrt{\pi}s}e^{-s^2}\left(1+\frac{\varepsilon}{4}-\frac{\varepsilon s^2}{2}\right), \tag{3.8}$$

$$G_{12}(s,\varepsilon)=\frac{1}{\sqrt{\pi}s}e^{-s^2}\left(s^2-\frac{1}{2}+\varepsilon s^2-\frac{\varepsilon s^4}{2}-\frac{\varepsilon}{8}\right), \tag{3.9}$$

$$G_{21}(s,\varepsilon)=\frac{2}{3\sqrt{\pi}s}e^{-s^2}\left(s^2-\frac{1}{2}+\frac{\varepsilon}{8}+\frac{\varepsilon s^2}{2}-\frac{\varepsilon s^4}{2}\right), \tag{3.10}$$

$$G_{22}(s,\varepsilon)=\frac{2}{3\sqrt{\pi}s}e^{-s^2}\left(\left(s^2-\frac{1}{2}\right)^2+1+\frac{7\varepsilon}{16}-\frac{7\varepsilon s^2}{8}+\frac{5\varepsilon s^4}{4}-\frac{\varepsilon s^6}{2}\right). \tag{3.11}$$

После подстановки (3.2), (3.3) в (2.6) сводит его к линейному скалярному интегральному уравнению относительно скорости газа

$$u(x)=\int_0^\infty K_{11}(x-t)u(t)dt \tag{3.12}$$

Таким образом, задача свелась к системе линейных интегральных уравнений (3.4) относительно поправок плотности $f_1(x)$ и температуры $f_2(x)$ и линейному однородному скалярному уравнению (3.12) относительно скорости газа.

4. О РАЗРЕШИМОСТИ УРАВНЕНИЯ (3.11)

Перепишем уравнение (3.12) в операторном виде:

$$(I-\widehat{K}_{11})u=0\,. \tag{4.1}$$

Здесь I – единичный оператор, а $\widehat{K}_{11}$ – оператор Винера-Хопфа:

$$(\widehat{K}_{11}f)(x)=\int_0^\infty K_{11}(x-t)f(t)dt. \qquad (4.2)$$

Одним из необходимых условий обратимости оператора $\widehat{K}_{11}$ в любом из естественных банаховых пространств

E $\left(L_p(0,+\infty),\ p\geq 1;\ M(0,+\infty)=L_\infty(0,+\infty);\ C_0\right)$ является отличие от нуля символа $1-\overline{K}_{11}(s)$ $(s\in R)$ оператора $\widehat{K}_{11}$. Здесь $\overline{K}_{11}(s)$ – преобразование Фурье функции $K_{11}(x)$, т.е.

$$\overline{K}_{11}(s)=\int_{-\infty}^\infty e^{isx}K_{11}(x)dx. \qquad (4.3)$$

Из (3.7)-(3.8) имеем

$$1-\overline{K}_{11}(s)=1-\int_{-\infty}^\infty e^{isx}\int_0^\infty e^{-\frac{|x|}{p}}G_{11}(p,\varepsilon)dpdx=s^2\int_0^\infty\frac{2p^3G_{11}(p,\varepsilon)dp}{1+s^2p^2}. \qquad (4.4)$$

Из (4.4) следует, что для $\forall\varepsilon\geq 0$ символ $1-\overline{K}_{11}(s)$ оператора $\widehat{K}_{11}$ имеет в нуле вырожденность второго порядка.

В настоящем параграфе будет показано, что однородное уравнение(3.12) имеет решение, несмотря на то, что символ $1-\overline{K}_{11}(s)$ имеет ноль второго порядка в точке $s=0$. Предложенный подход решения этого уравнения основан на специальной факторизации, описанной в работе [13].

Введем следующие нижние и верхние вольтерровы операторы $\widehat{V}_\pm$.

$$(\widehat{V}_+f)(x)=\beta\int_0^x e^{-\beta(x-t)}f(t)dt;\ (\widehat{V}_-f)(x)=\beta\int_x^\infty e^{-\beta(t-x)}f(t)dt, \qquad (4.5)$$

символы которых равны

$$1-\overline{V}_{\pm}(s)=\frac{\mp is}{\beta\mp is}. \tag{4.6}$$

Здесь $\beta>0$ – произвольный числовой параметр.

Легко можно проверить следующее равенство:

$$1-\overline{K}_{11}(s)=(1-\overline{V}_{-}(s))(1-\overline{T}_{11}(s,\beta))(1-\overline{V}_{+}(s)), \tag{4.7}$$

$$1-\overline{T}_{11}(s,\beta)=\int_0^{\infty}\frac{2pG_{11}(p,\varepsilon)p^2(s^2+\beta^2)dp}{1+s^2p^2}, \tag{4.8}$$

где $\overline{T}_{11}(s,\beta)=\int_0^{\infty}\frac{2pG_{11}(p,\varepsilon)p^2(1-s^2p^2)dp}{1+s^2p^2}$ - преобразование Фурье функции

$$T_{11}(x,\beta)=\int_0^{\infty}e^{-\frac{|x|}{s}}G_{11}(s,\varepsilon)\left(1-\beta^2s^2\right)ds. \tag{4.9}$$

В работе [19] показано, что из равенств символов следует равенство соответствующих операторов

$$I-\widehat{K}=(I-\widehat{V}_{-})\left(I-\widehat{T}_{11}^{\beta}\right)(I-\widehat{V}_{+}), \tag{4.10}$$

$\widehat{T}_{11}^{\beta}$ – интегральный оператор Винера-Хопфа:

$$(\widehat{T}_{11}^{\beta}f)(x)=\int_0^{\infty}T_{11}^{\beta}(x-t)f(t)dt. \tag{4.11}$$

Заметим из (4.8) , что в нуле символ оператора $\widehat{T}_{11}^{\beta}$ отличен от нуля для $\forall\ \beta>0$.

Пусть, $f\in E$ – произвольная функция. Для нормы функции $\varphi=\widehat{T}_{11}^{\beta}f$ в каждом из пространств E имеет место оценка

$$\|\varphi\|_E\le\lambda(\beta)\|f\|_E, \tag{4.12}$$

где

$$\lambda_{\varepsilon}(\beta)=\int_{-\infty}^{\infty}\left|T_{11}^{\beta}(x)\right|dx. \tag{4.13}$$

Неравенство (4.12) следует из того факта, что для нормы скалярного интегрального оператора Винера-Хопфа имеет место оценка

$$\left\|\widehat{T}_{11}^{\beta}\right\|_E \le \int_{-\infty}^{\infty}\left|T_{11}^{\beta}(\mathrm{x})\right|dx \equiv \left\|\widehat{T}_{11}^{\beta}\right\|_{L_1}. \qquad (4.14)$$

Для того чтобы оператор $\widehat{T}_{11}^{\beta}$ был сжимающим, достаточно чтобы существовали $\beta > 0$ и $\varepsilon \ge 0$ такие, что

$$\lambda_\varepsilon(\beta) < 1. \qquad (4.15)$$

Отдельно рассмотрим случай когда $\varepsilon = 0$. Тогда уравнение (4.1) становится известным в литературе консервативным однородным интегральным уравнением Винера-Хопфа с неотрицательной ядерной функцией $K_{11}(x)\big|_{\varepsilon=0}$, $x \in R$.

Как известно, вышеуказанное уравнение обладает положительным абсолютно непрерывным монотонно возрастающим решением вида (см. [19]):

$$u(\mathrm{x}) = \frac{1}{\sqrt{\upsilon_2}}x + q(\mathrm{x}), \ \ \mathrm{q}(\mathrm{x}) = o(\mathrm{x}), \ \mathrm{x} \to \infty. \qquad (4.16)$$

Здесь $q(\mathrm{x})$ – известная функция Хопфа, υ_2 – второй момент функции $K_{11}(x)\big|_{\varepsilon=0}$ на $(0, +\infty)$.

Если $\varepsilon \in (0,2)$, то в качестве β выбираем $\beta = \sqrt{\dfrac{2\varepsilon}{1+\varepsilon}}$. Тогда имеем

$$\lambda_\varepsilon(\beta) = \frac{2}{\sqrt{\pi}}\int_{-\infty}^{\infty} e^{-s^2}\left|1+\frac{\varepsilon}{4}-\frac{\varepsilon s^2}{2}\right|\left|1-\beta^2 s^2\right|ds = \frac{\varepsilon\beta^2}{\sqrt{\pi}}\int_0^{\infty} e^{-s^2}\left(\frac{1}{\beta^4}-\frac{2s^2}{\beta^2}+s^4\right)ds = \frac{\varepsilon^2+8}{8+2\varepsilon} < 1 \qquad (4.17)$$

Заметим, что при $\varepsilon \in (0,2)$, $\beta = \sqrt{\dfrac{2\varepsilon}{1+\varepsilon}}$ ядро $\widehat{T}_{11}^{\beta}$ неотрицательно. Пусть, теперь $\varepsilon \geq 2$. В этом случае $\widehat{T}_{\beta}$ не является сжимающим в $L_1(\mathrm{R}^+)$. На самом деле,

$$\lambda_{\varepsilon}(\beta) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_{-\infty}^{\infty} e^{-s^2} \left|1 + \frac{\varepsilon}{4} - \frac{\varepsilon s^2}{2}\right| \left|1 - \beta^2 s^2\right| ds \geq$$

$$\geq \left|\frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_{0}^{\infty} e^{-s^2} \left(1+\frac{\varepsilon}{4}-\frac{\varepsilon s^2}{2}\right)\left(1-\beta^2 s^2\right) ds\right| = 1-\frac{\beta^2}{2}+\frac{\beta^2\varepsilon}{4} \geq 1. \quad (4.18)$$

Пусть, $\varepsilon \in (0,2)$. Применим факторизацию (4.10) для последовательного решения уравнения (4.1):

$$(I - \widehat{V}_{-})H = 0, \quad (4.19)$$

$$(I - \widehat{T}_{11}^{\beta})F = H, \quad (4.20)$$

$$(I - \widehat{V}_{+})\mathrm{u} = F. \quad (4.21)$$

Прямой проверкой можно убедиться, что $H(x) \equiv c$ удовлетворяет уравнению (4.19). Рассмотрим уравнение (4.20) в раскрытом виде

$$F(x) = c + \int_{0}^{\infty} T_{11}^{\beta}(x-t)F(t)dt. \quad (4.22)$$

Поскольку при $\varepsilon \in (0,2)$ оператор $\widehat{T}_{11}^{\beta}$ является сжимающим в каждом из пространств E, а его ядро неотрицательно, то линейное уравнение (4.22) имеет единственное неотрицательное решение в $M(0;+\infty)$. Решая уравнение (4.21), будем иметь:

$$u(x) = \beta \int_{0}^{x} F(t)dt + F(x) \quad (4.23)$$

Так как $F \in M(0.+\infty)$, то из (4.23) следует, что $u(\mathrm{x}) = O(\mathrm{x})$, когда $x \to +\infty$.

Итак, справедлива

Теорема. *Пусть,* $\varepsilon \in [0,2)$, *а функция* $K_{11}(\mathrm{x})$ *задается, согласно (3.7). Тогда уравнение (3.12) имеет неотрицательное решение в пространстве функций, имеющих линейный рост в бесконечности.*

5. О РАЗРЕШИМОСТИ СИСТЕМЫ УРАВНЕНИЙ (3.4)

В настоящем параграфе метод специальной факторизации, изложенный в предыдущем параграфе для скалярного уравнения, будет распространен на систему уравнений (3.4). Следует отметить, что случай $\varepsilon = 0$ рассмотрен в работе [12].

Перепишем уравнение (3.4) в операторном виде

$$(\mathrm{J}-\widehat{K})f = h, \tag{5.1}$$

где $h = (h_1, h_2)^T$; $f = (f_1, f_2)^T$ – вектор-столбцы, T – знак транспонирования, $\widehat{K} = \left(K_{ij}\right)_{i,j=1,2}$ – интегральный оператор Винера-Хопфа:

$$(\widehat{K}f)(x) = \int_0^\infty K(x-t)f(t)dt, \tag{5.2}$$

J – единичный оператор. Из представления (3.7) имеем

$$K \in L_1^{2x2}(-\infty,+\infty), \quad \int_{-\infty}^{\infty} K(x)dx = \int_0^\infty 2pG(p,\varepsilon)dp = I, \ \forall \varepsilon > 0, \tag{5.3}$$

где $I = \left(\delta_{ij}\right)_{i,j=1,2}$ – единичная матрица, $G(p,\varepsilon) = \left(G_{ij}(p,\varepsilon)\right)_{i,j=1,2}$ – знакопеременная измеримая матрица-функция (см (3.8)-(3.11)).

Пусть, $E^2 = E \times E$ – пространство двухмерных вектор-столбцов с элементами из пространства E. Вопрос обратимости оператора $\mathrm{J}-\widehat{K}$ в пространстве E^2 и другие его важные свойства, как и в скалярном случае, определяются с помощью символа $I - \overline{K}(s)$. Здесь преобразование Фурье понимается по компонентам.

Одним из необходимых условий обратимости оператора $\mathrm{J}-\widehat{K}$ в любом из пространств E^2 является отличие от нуля символа оператора $\widehat{K}$, т.е.

$$\det(I-\overline{K}(s))\neq 0,\ \ s\in(-\infty,+\infty)\,. \tag{5.4}$$

Однако из равенств (5.3) следует, что условие (5.4) нарушается в точке $s=0$.

Введем верхние и нижние вольтерровы матричные операторы

$$\widehat{U}^{\pm}=\begin{pmatrix}\widehat{U}^{\pm} & 0\\ 0 & \widehat{U}^{\pm}\end{pmatrix}, \tag{5.5}$$

$$\left(\widehat{U}^{-}f\right)(x)=\beta\int_x^{\infty}e^{-\beta(t-x)}f(t)dt,\ \left(\widehat{U}^{+}f\right)(x)=\beta\int_x^{\infty}e^{-\beta(x-t)}f(t)dt, \tag{5.6}$$

Символы операторов $\mathrm{J}-\widehat{K}$ и $I-\widehat{U}^{\pm}$ задаются согласно соответствующим формулам:

$$I-\overline{K}(s)=\int_0^{\infty}\frac{p^2s^2\,2pG(p,\varepsilon)dp}{1+p^2s^2}\,, \tag{5.7}$$

$$I-\widehat{U}^{\pm}(s)=\left(\frac{\mp is}{\beta\mp is}\,\delta_{mj}\right)_{m,j=1,2}. \tag{5.8}$$

Аналогично скалярному случаю, имеет место равенство символов

$$I-\overline{K}(s)=\left[I-\overline{U}^{-}(s)\right]\left[I-\overline{T}_{\beta}(s)\right]\left[I-\overline{U}^{+}(s)\right] \tag{5.9}$$

и факторизация матричного интегрального оператора $\mathrm{J}-\widehat{K}$.

$$\mathrm{J}-\widehat{K}=\left[\mathrm{J}-\widehat{U}^{-}\right]\left[\mathrm{J}-\widehat{T}_{\beta}\right]\left[\mathrm{J}-\widehat{U}^{+}\right]. \tag{5.10}$$

Здесь $\widehat{T}$ – матричный интегральный оператор с ядром

$$T_{\beta}(x)=\left(T_{ij}^{\beta}(x)\right)_{ij=1,2}=\int_0^{\infty}e^{-\frac{|x|}{p}}G_{ij}(p,\varepsilon)(1-p^2\beta^2)dp\,, \tag{5.11}$$

а $I-\overline{T}_{\beta}(s)$ – символ матричного интегрального оператора $\widehat{T}_{\beta}$.

Покажем, что, в отличие от оператора $\mathrm{J}-\widehat{K}$, символ оператора $\widehat{T}_{\beta}$ в нуле отличен от нуля. Действительно,

$$\det\left[I-\overline{T}_\beta(0)\right]=\beta^2\det A\,, \tag{5.12}$$

где

$$A=(a_{ij})=\int_0^\infty 2p^3G_{ij}(p,\varepsilon)dp\,.$$

Если $\det A\neq 0$, то

$$\det\left[I-\overline{T}(0)\right]\neq 0,\ \ \forall\ \beta>0. \tag{5.13}$$

Если предположить, что символ $I-\overline{K}(s)$ исходного оператора $J-\widehat{K}$ не имеет других нулей, т.е. $\det\left[I-\overline{K}(s)\right]\neq 0,\ s\neq 0$, то можно утверждать и об отсутствии других нулей функции $F(s)=\det\left[I-\overline{T}_\beta(s)\right]$. Последнее вовсе не означает, что оператор $J-\widehat{T}_\beta$ обратим в пространстве E^2.

Рассмотрим следующую вектор-функцию

$$\varphi=\widehat{T}f\,,$$

где $\varphi=(\varphi_1,\varphi_2)^T$, $f=(f_1,f_2)^T$, $\widehat{T}_\beta=(T_{ij})_{i,j=1,2}$ – матричный интегральный оператор.Нетрудно убедиться, что в любом из пространств E^2 имеет место оценка:

$$\|\varphi\|_{E^2}\leq\max(\lambda(\beta,\varepsilon),\mu(\beta,\varepsilon))\|f\|_{E^2}\,, \tag{5.14}$$

где

$$\lambda(\beta,\varepsilon)=\left\|\widehat{T}_{11}^{\beta}\right\|_{L_1}+\left\|\widehat{T}_{21}^{\beta}\right\|_{L_1}, \tag{5.15}$$

$$\mu(\beta,\varepsilon)=\left\|\widehat{T}_{12}^{\beta}\right\|_{L_1}+\left\|\widehat{T}_{22}^{\beta}\right\|_{L2}. \tag{5.16}$$

Для того чтобы интегральный (матричный) оператор $\widehat{T}_\beta$ был сжимающим достаточно, чтобы $\exists\ \beta>0,\ \ \varepsilon\geq 0$, такие, что

$$\sigma=\max\left\{\lambda(\beta,\varepsilon);\ \mu(\beta,\varepsilon)\right\}<1\,. \tag{5.17}$$

Численные расчеты показывают, что при $\varepsilon\in[0,1)$ условие (5.17) выполняется (см ниже: 6.)

Применим факторизацию (5.10) к уравнению (5.1). Она «сводит» его к последовательному решению следующих связанных уравнений:

$$\left(I-\widehat{U}^{-}\right)H=h, \tag{5.18}$$

$$\left(I-\widehat{T}_{\beta}\right)F=H, \tag{5.19}$$

$$\left(I-\widehat{U}^{+}\right)f=F. \tag{5.20}$$

Раскрывая операторное уравнение (5.18), получим два несвязанных уравнения:

$$H_k(x)=h_k(x)+\beta\int_x^{\infty}e^{-\beta(t-x)}H_k(t)dt,\ k=1,2,...;\ \ H\in L_1^{2x2}(0,+\infty). \tag{5.21}$$

Решения этих уравнений имеют вид:

$$H_k(x)=h_k(x)+\beta\int_x^{\infty}h_k(t)dt,\quad k=1,2. \tag{5.22}$$

Так как в пространстве E^2 оператор $\widehat{T}_{\beta}$ является сжимающим с коэффициентом сжатия $\sigma<1$ и $H\in L_1^{2x2}(0,+\infty)$, то уравнение (5.19) имеет решение

$$F\in L_1^{2x2}(0,+\infty). \tag{5.23}$$

Наконец, уравнения (5.20) имеет решение $f=(f_1,f_2)^T$:

$$f_i(x)=\beta\int_0^{x}F_i(t)dt+F_i(x),\quad i=1,2;\quad F=(\mathrm{F}_1,\mathrm{F}_2)\in L_1^{2x2}(0,+\infty). \tag{5.24}$$

Итак, если $\varepsilon\in(0,1)$, то система интегральных уравнений Винера-Хопфа (3.4) имеет ограниченное решение вида (5.24).

Если же $\varepsilon\equiv 0$, то соответствующая однородная система(3.4) $((h_i(\mathrm{x})=0,\ \mathrm{i}=1,2)$ обладает тривиальным решением с асимптотикой $O(\mathrm{x})$, когда $x\to+\infty$. Последнее утверждение можно доказать аналогичными рассуждениями как в § 4.

Заключение

Заметим, что в рамках БГК модели, когда $\varepsilon = 0$ ($h_i(x)=0$, $i=1,2$) – однородная система уравнений (3.4) относительно поправок температуры и плотности обладает решением, имеющим линейный рост в бесконечности. Последнее не может адекватно описать задачу с физической точки зрения, ведь получается, что, отдаляясь от стенки, температура газа повышается. Новая модифицированная модель лишена этого недостатка, и неоднородная система (3.4) $\left(h_i(x) \neq 0\right)$ при $\varepsilon \in (0,1)$ имеет ограниченное решение.

Качественное различие между решениями обусловлено новой моделью, являющейся возмущением БГК модели.

Отметим также, что если стенка движется с некоторой постоянной скоростью ω, то вместо однородного уравнения (3.12) получим неоднородное уравнение со свободным членом:

$$u_0(x) \equiv \frac{\omega}{\sqrt{\pi}} \int_0^{\infty} e^{-\frac{x}{s}} e^{-s^2} ds. \qquad (5.25)$$

В работе [20] доказано, что соответствующее неоднородное уравнение (3.12) со свободным членом (5.25) имеет ограниченное решение.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Bhatnagar P.L., Gross E.P., Krook M.* A model for collision processes in gases // Phys. Rev., vol. 94. PP. 511–525, (1954).
2. *Welander P.* On the temperature jump in a rarefied gas// Ark. Fys. Bd. 7. S. 507–553, (1954).
3. *Cercignani C., Tironi G.* Rarefied gas dynamics, v.1, p. 441, New York, Academic Press, (1967).
4. *Shakhov E.M.* On the generalization of the Krook kinetic equation. // Izvestiya of Russian Academy of Sci. Fluid Dynamics, № 5, PP. 142–145 (1968).

5. *Liu G.*A method for constructing a model from for the Boltzmann equation. // Phys. Fluids, A2, 277 (1990).
6. *Sirovich L.* // Phys. Fluids, v.5, 908, 1962**;** русский перевод. // «Некоторые вопросы кинетической теории газов», М.: Мир, (1965).
7. *Cercignani C.* Mathemtaical method sinkinetic theory, NewYourk, PlenumPress, (1969).
8. *Lebowitz J.L., Frish H.L., Heffend E.* //Phys. Fluids, Nonequilibirum distribution functions in a fluid. v3, 325-338, (1960).
9. *Латышев А.В.*, *Юшканов А.А.* Аналитическое решение граничных задач для кинетической теории. М., МГОУ, (2004).
10. *Латышев А.В.*, *Юшканов А.А.* Тепловое и изотермические скольжение в новом модельном кинетическом уравнении Лиу //Письма в журнал тех. физики, Т.23, 14. СС.13–16 (1997).
11. *Barichello L.B. and Siewert C.E.* The temperature – jump problem in rarefied – gas dynamics. // European Journal of Applied Mathematics. v.11, 4. PP. 353–364 (2000).
12. *Терджян Ц.Э., Хачатрян А.Х.* Об одной системе интегральных уравнений в кинетической теории // Журн. выч. матем. и матем. физ. Т. 49, № 4. СС. 715–721(2009).
13. *Енгибарян Н.Б., Енгибарян Б.Н.* О методе сдвига альбедо // Астрофизика. Т. 38, вып. 3, СС. 417–431(1995).
14. *Ivanov V.V., Rybicki G.B. and Kasaurov A.M.* Albedo shifting.// Harvard – Smithsonian Center for Astrophysics. Preprint Series № 3478. (1992).
15. *Yengibaryan N.B., Khachatryan A.Kh.* On temperature and density jumps in kinetic theory of gases. // Nova science Publisher, (Series Horizons in world physics), v. 243. PP. 103–117 (2003).
16. *Коган М.Н.* Динамика разреженного газа. М.: Наука, 440с. (1967).
17. *Черчиньяни К.* Теория и приложения уравнения Больцмана. М.: «Мир». 495с.(1978).

18. *Енгибарян Н.Б., Хачатрян А.Х.* Вопросы нелинейной теории динамики разреженного газа.// Математическое моделирование. Т. 16, № 1. СС. 67–74 (2004).
19. *Арабаджян Л.Г., Енгибарян Н.Б.* Уравнение в свертках и нелинейные функциональные уравнения // Итоги науки и техники. «Матем. анализ». М.: ВИНИТИ АН СССР. Т. 22. СС. 175–224, (1984).
20. *Хачатрян А.Х., Хачатрян А.А.* К решению одной нелинейной граничной задачи для модельного уравнения Больцмана // Вестник РАУ, №1. СС. 46–56 (2016).

ON SOLVABILITY OF A BOLTZMANN EQUATION IN THE FRAMEWORK OF A MODIFIED BGK MODEL

A. Khachatryan, Kh. Khachatryan, A. Khachatryan

ABSTRACT

A new modified Bhatnagar-Gross-Krook (BGK) model has been proposed. The Boltzmann equation in framework of this model is applied to the classical problem of gas flow in a half-space. The problem is reduced to a system of linear integral equations, whose symbol at zero has fourth-order degeneration, and to a scalar homogeneous linear integral equation, whose symbol at zero has second-order degeneration. A constructive theorem on the existence of a solution of homogeneous scalar equation in the space of functions having linear growth at infinity is proved. A theorem on the existence of a solution for an inhomogeneous system obtained in the frameworkof a new model in the space of bounded functions is proved. It is shown that the corresponding homogeneous system obtained within the framework of the BGK model, has a solution in the space of functions with asymptotic $O(x)$ as $x \to \infty$. The qualitative difference between the solutions is due to the introduction of new model, which is a perturbation of the BGK model.

Keywords: Boltzmann model equation, factorization, symbol, operator,linearization, system of integral equations.

УДК 539.3

Поступила: 20.02.2019г.
Сдана на рецензию: 22.02.2019г.
Подписано к печати: 12.04.2019г.

ЗАДАЧА ДИНАМИЧЕСКОЙ НЕУСТОЙЧИВОСТИ ПРЯМОУГОЛЬНОЙ ПЛАСТИНКИ В СВЕРХЗВУКОВОМ ПОТОКЕ ГАЗА

А.А. Шмавонян

Российско-Армянский университет

harut.shmavonyan@gmail.com

АННОТАЦИЯ

Рассматривается задача динамической неустойчивости (нелинейного флаттера) прямоугольной пластинки, обтекаемой сверхзвуковым потоком газа. Исследование проведено с учетом аэродинамической (квадратичной и кубической) и геометрической (кубической) нелинейностей. Показано, что учет аэродинамической нелинейности приводит к появлению новых типов флаттерных колебаний как в докритической стадии, так и послекритических скоростях.

Ключевые слова: Флаттерные колебания, динамическая неустойчивость пластинки.

Постановка задачи

Рассмотрим тонкую прямоугольную пластинку постоянной толшины h. Пусть материал пластинки подчиняется обобщенному закону Гука и отнесена к декартовой прямоугольной системе координат α, β, γ. Координатная плоскость α, β совпадает со срединной плоскостью пластинки.

Пусть, далее пластинка обтекается с одной стороны сверхзвуковым потоком газа с невозмущенной скоростью U, направленной вдоль оси 0α. Принимаются следующие предположения (см. [1–4]):

а) гипотеза Кирхгофа-Лява о недеформируемых нормалях;

б) основные предположения теории гибких пластин, считая, что нормальные перемещения сравнимы с толщиной пластинки;

в) избыточное давление газа представляется по приближенной формуле «порщневой теории».

На основе принятых предположений получается следующая нелинейная система дифференциальных уравнений движения пластинки:

$$\frac{1}{Eh}\Delta^2 F + \frac{\partial^2 w}{\partial\alpha^2}\frac{\partial^2 w}{\partial\beta^2} - \left(\frac{\partial^2 w}{\partial\alpha\partial\beta}\right)^2 = 0, \tag{1.1}$$

$$\begin{gathered} D\Delta^2 w - \frac{\partial^2 w}{\partial\alpha^2}\frac{\partial^2 F}{\partial\beta^2} - \frac{\partial^2 w}{\partial\beta^2}\frac{\partial^2 F}{\partial\alpha^2} + 2\frac{\partial^2 w}{\partial\alpha\partial\beta}\frac{\partial^2 F}{\partial\alpha\partial\beta} - \rho_0 h\frac{\partial^2 w}{\partial t^2} - \\ -\left(\rho_0 h\varepsilon + \frac{æ p_\infty}{a_\infty}\right)\frac{\partial w}{\partial t} - æ p_\infty\left[M\frac{\partial w}{\partial\alpha} + \frac{æ+1}{4}M^2\left(\frac{\partial w}{\partial\alpha}\right)^2 + \frac{æ+1}{12}M^3\left(\frac{\partial w}{\partial\alpha}\right)^3\right] = 0, \end{gathered} \tag{1.2}$$

Здесь

$$D = \frac{Eh^3}{12\left(1-\mu^2\right)}, \quad M = \frac{U}{a_\infty}, \; a_\infty = \frac{æ p_\infty}{\rho_\infty},$$

$w(\alpha,\beta,t)$ – прогиб пластинки, M – число Маха, a_∞ – скорость звука для невозмущенного газа, æ – показатель политропы, E – модуль упругости, μ – коэффициент Пуассона, ρ_0 – плотность материала пластинки, p_∞ и ρ_∞ – давление и плотность газа в невозмущенном состоянии, ε – коэффициент линейного затухания, $F = F(\alpha,\beta,t)$ – функция напряжений.

Краевые условия. Сведение к системе обыкновенных дифференциальных уравнений

Рассмотрим шарнирно опертую по всему контуру ортотропную пластинку. Тогда граничные условия имеют следующий вид:

при $\alpha = 0, \alpha = a$

$$w = 0, M_\alpha = D\frac{\partial^2 w}{\partial \alpha^2} = 0, \quad (2.1)$$

$$S^0 = 0, T_\alpha^0 = 0, \quad (2.2)$$

при $\beta = 0, \beta = b$

$$w = 0, M_\beta = D\frac{\partial^2 w}{\partial \beta^2} = 0, \quad (2.3)$$

$$S^0 = 0, T_\beta^0 = 0, \quad (2.4)$$

где T_α^0, T_β^0, S – средные значения тангенциальных усилий, M_α, M_β – тангенциальные моменты на кромках пластинки.

Приближенное решение уравнения (1.2), удовлетворяющее условиям (2.1) и (2.3) будем искать в виде [2]:

$$w(\alpha, \beta, t) = (f_1(t) \sin\lambda_1 \alpha + f_2(t) \sin\lambda_2 \alpha) \cdot \sin\mu_1 \beta, \left(\lambda_i = \frac{i\pi}{a}, \mu_1 = \frac{\pi}{b}\right). \quad (2.5)$$

Здесь $f_i(t)$ – подлежащие определению функции времени t. Подставив (2.5) в (1.1) и применяя метод неопределенных коэффициентов, находим функцию F, удовлетворяющую граничным условиям (2.2) и (2.4).

Для определения $f_i(t)$ воспользуемся уравнением (1.2). Подставляя (2.5) в (1.2) и применяя метод Бубнова-Галеркина для определения безразмерных неизвестных функций $x_1(\tau) = \frac{f_1(t)}{h}, x_2(\tau) = \frac{f_2(t)}{h}$, получим следующую нелинейную систему обыкновенных дифференциальных уравнений, которая внешне не отличается от аналогичной системы, полученной в [2]:

$$\frac{d^2x_1}{d\tau^2}+\chi\frac{dx_1}{d\tau}+x_1-\frac{2}{3}k\nu x_2+k\nu^2\Big[\alpha_{11}x_1^2+\alpha_{12}x_2^2+$$
$$+\nu x_2\left(\beta_{11}x_1^2+\beta_{12}x_2^2\right)\Big]+Qx_1\left(\gamma_{11}x_1^2+\gamma_{12}x_2^2\right)=0$$
$$\frac{d^2x_2}{d\tau^2}+\chi\frac{dx_2}{d\tau}+\gamma^2x_2+\frac{2}{3}k\nu x_2+k\nu^2\Big[\alpha_{21}x_1x_2+$$
$$+\nu x_1\left(\beta_{21}x_1^2+\beta_{22}x_2^2\right)\Big]+Qx_2\left(\gamma_{21}x_1^2+\gamma_{22}x_2^2\right)=0. \quad (2.6)$$

Здесь, наряду с безразмерным временем $\tau=\omega_1 t$, введены обозначения

$$\omega_i^2=\frac{D}{\rho_0 h}\left[\lambda_i^2+\mu_1^2\right]^2 \quad (i=1,2),$$
$$k=\frac{4æp_\infty}{\rho_0\omega_1^2h^2},\quad Q=\frac{4}{16\rho_0\omega_1^2},\quad L=\frac{1}{\rho_0 h\omega_1^2}, \quad (2.7)$$
$$\nu=M\frac{h}{a},\qquad \gamma=\frac{\omega_2}{\omega_1},\qquad \chi=\frac{2}{\omega_1}\left(\varepsilon+\frac{æp_\infty}{\rho_0 h a_\infty}\right),$$

$$\alpha_{11}=\frac{2}{9}(æ+1),\quad \alpha_{12}=\frac{56}{45}(æ+1),\quad \alpha_{21}=\frac{16}{45}(æ+1), \quad (2.8)$$

$$\beta_{11}=\beta_{21}=\frac{\pi^2}{40}(æ+1),\quad \beta_{22}=\frac{11\pi^2}{70}(æ+1),\quad \beta_{12}=-\frac{9\pi^2}{70}(æ+1), \quad (2.9)$$

$$\gamma_{11}=\frac{\lambda_1^4}{a_{22}}+\frac{\mu_1^4}{a_{11}},\ \gamma_{12}=\gamma_{21}=4\gamma_{11}+\frac{81\lambda_1^4\mu_1^4}{\Delta_{12}}+\frac{\lambda_1^4\mu_1^4}{\Delta_{32}},\ \gamma_{22}=\frac{\lambda_2^4}{a_{22}}+\frac{\mu_1^4}{a_{11}}, \quad (2.10)$$
$$\Delta_{\lambda_i\mu_2}=a_{11}\lambda_i^4+\left(a_{66}-2a_{12}\right)\lambda_i^2\mu_2^2+a_{22}\mu_2^4,\quad (i=1,3),$$

где ω_1 и ω_2 – частоты первой и второй формы малых собственных колебаний пластинки, ν – приведенный параметр скорости. Система нелинейных уравнений (2.6), описывающая поведение возмущений в ортотропной пластинке [5].

Соответствующая (2.6) система линейных дифференциальных уравнений допускает решения в виде $x_i=y_i\,exp(\lambda\tau)$. Подставляя указанные решения в линейную систему, получаем характеристическое

уравнение относительно λ. Согласно теореме Гурвица, флаттерное состояние пластинки будет устойчива, если действительные части всех корней характеристического уравнения отрицательны. Значение параметра $\nu = \nu_*$, при котором два из характеристических показателей становятся чисто мнимимы, а остальные по-прежнему лежат в левой полуплоскости, является критическим и соответствует критической скорости панельного флаттера в линейной постановке этой задачи

$$\nu^* = \frac{3}{4}\frac{\gamma^2-1}{k}\sqrt{1+\frac{2\chi^2(\gamma^2+1)}{(\gamma^2-1)^2}}. \quad (2.11)$$

Решение методом гармонического баланса

Система (2.6) отличается от аналогичных систем устойчивости гибких пластин загруженных консервативными силами, наличием членов с квадратичными нелинейностями. Указанные члены, имеющие аэродинамическое происхождение, характеризуют несимметричность нелинейности, присущую к задачам устойчивости гибких оболочек. Поэтому, приближенное периодическое решение системы (2.6) будем искать методом гармонического баланса в виде [5]:

$$\begin{aligned} x_1 &= A_1\cos\theta\tau + B\sin\theta\tau + C_1 + \ldots, \\ x_2 &= A_2\cos\theta\tau + C_2 + \ldots \end{aligned} \quad (3.1)$$

Здесь A_i, B, C_i и $\theta (i = 1,2)$ – неизвестные постоянные; точками обозначены члены, содержащие гармоники. Структура решения (3.1) отличается от существующих [2, 3] наличием свободных членов $C_i \neq 0$, присутствие которых характерна задачам с квадратичной нелинейностью.

Подставим решения (3.1) в систему (2.6) и приравним нулю коэффициенты при свободном члене, $cos\,\theta\,\tau$ и $sin\,\theta\,\tau$ (члены, содержащие гармоники, пренебрегаются). Получающая при этом система не-

линейных алгебраических уравнений довольно громоздка для исследования и здесь не приводится. При допущении, что, как показано в [2] $A_2 = -A_1$, получаем следующее уравнение относительно A_1 [5]:

$$b_0 A_1^6 + b_2 A_1^4 + b_2 A_1^2 + b_3 = 0. \quad (3.2)$$

Здесь

$$b_0 = \frac{3}{16}\left(k\nu^3\beta_0 - Q\gamma_0\right)\left[R_{12}R_{21} - P_{12}P_{21}\right],$$

$$b_1 = \frac{1}{3}k\left(\nu - \nu^*\right)\left(R_{12}R_{21} - P_{12}P_{21}\right) -$$
$$-\frac{1}{8}\left(Q\gamma_0 - k\nu^3\beta_0\right)\left\{3\left(R_{21} + \gamma^2 R_{12}\right) + 2\left[3\left(\beta_{21} - \beta_{12}\right) + \beta_{22} - \beta_{11}\right]k^2\nu^4\right\} -$$
$$-\frac{1}{4}\left(k\nu^2\right)^2\left\{\left(2\alpha_{11} - \alpha_{21}\right)\left[\left(\alpha_{11} + \alpha_{12}\right)R_{21} + \alpha_{21}P_{12}\right] + \left(2\alpha_{12} - \alpha_{21}\right)\left[\alpha_{21}R_{12} + \left(\alpha_{11} + \alpha_{12}\right)P_{21}\right]\right\}$$

$$b_2 = \frac{4}{3}k\left(\nu - \nu^*\right)\left\{\frac{1}{2}\left(R_{21} + \gamma^2 R_{12}\right) + \frac{1}{3}k^2\nu^4\left[3\left(\beta_{21} - \beta_{12}\right) + \beta_{22} - \beta_{11}\right]\right\} -$$
$$-\frac{3}{4}\left(Q\gamma_0 - k\nu^3\beta_0\right)\left(\gamma^2 + \frac{4}{9}k^2\nu^2\right) - \left(k\nu^2\right)^2\left\{\left(2\alpha_{11} - \alpha_{21}\right)\left(\frac{1}{2}\gamma^2\left(\alpha_{11} + \alpha_{12}\right) - \frac{1}{3}k\nu\alpha_{21}\right) +\right.$$
$$\left.+\left(2\alpha_{12} - \alpha_{21}\right)\left(\frac{1}{2}\alpha_{21} + \frac{1}{3}k\nu\left(\alpha_{11} + \alpha_{12}\right)\right)\right\},$$

$$b_3 = \frac{4}{3}k\left(\nu - \nu^*\right)\left(\gamma^2 + \frac{4}{9}k^2\nu^2\right).$$

где

$$R_{ij} = Q\left(\gamma_{ij} + 3\gamma_{ii}\right) - 2k\nu^3\beta_{ii};\; P_{ij} = Q\gamma_{ij} - 2k\nu^3\left(3\beta_{ij} + \beta_{ii}\right)\; i \neq j.$$

Численный анализ задачи

Уравнение (3.2) решено численно при следующих исходных данных: (дюралюминий), (воздух). На основе этого исследована зависимость амплитуды установившихся флаттерных колебаний в зависимости от параметра ν для разных значений параметров h/a и a/b. Результаты численного анализа показывают, что:

Если пластинка достаточно толстая (h/a и h/b одновременно больше чем 1/60), то возможно только «жесткое» возбуждение флаттера, т.к. при $\nu \leq \nu^*$ выполняется неравенство $\partial A_1/\partial\nu < 0$, а при $\nu > \nu^*$ действительные значения A_1 отсутствуют [2]. (Рис. 1,а).

Если пластинка достаточно тонкая (h/a и h/b одновременно меньше, чем 1/100), то возбуждение флаттерных колебаний носит «мягкий» характер, т.к. при $\nu \leq \nu^*$ действительные значения A_1 отсутствуют, а при $\nu > \nu^*$выполняется неравенство $\frac{\partial A_1}{\partial\nu} > 0$(Рис.1,б). Указанные характеры зависимости «амплитуда-скорость» выявлены в [2].

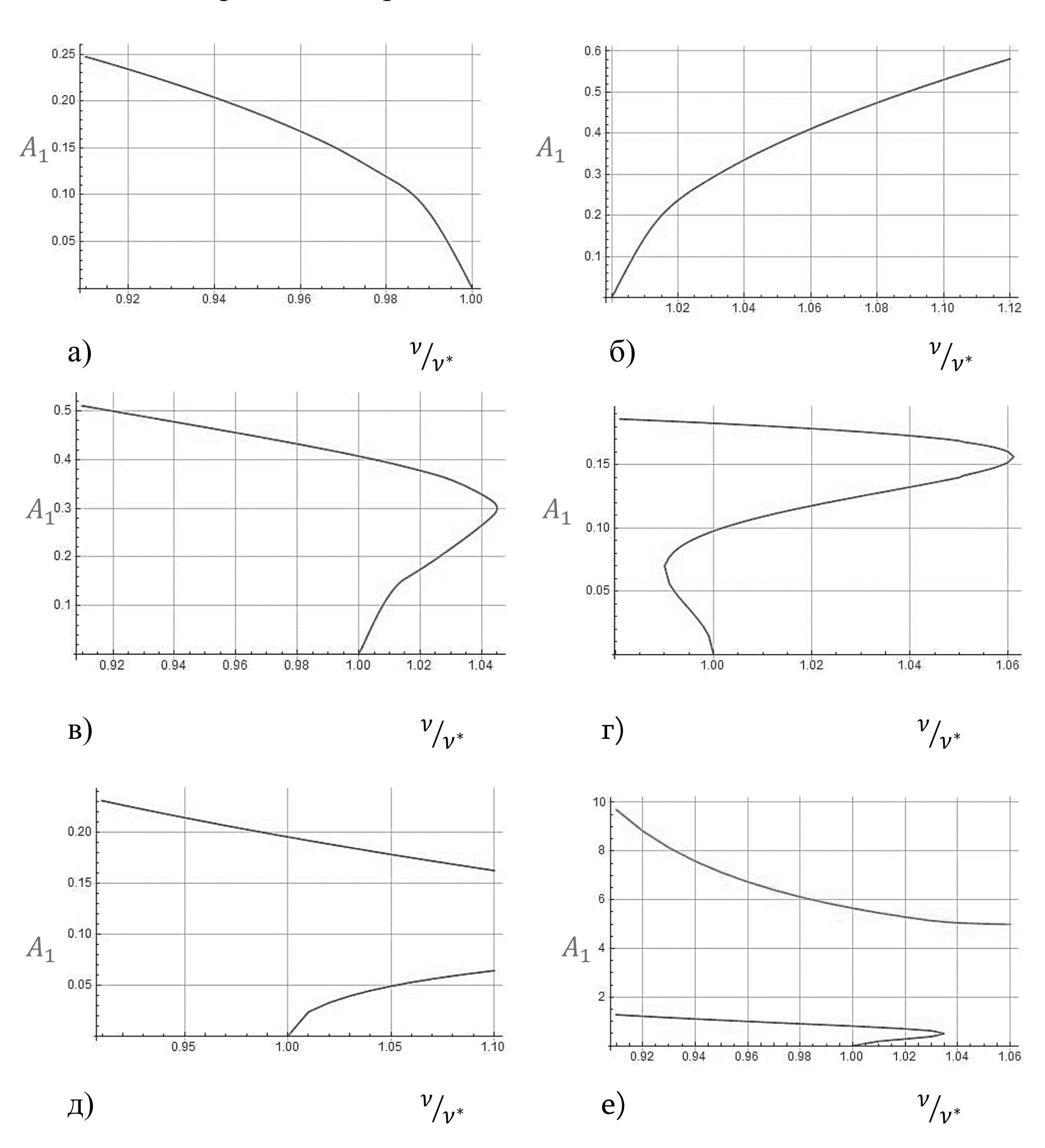
Кроме указанных обноружены также следующие новые типы зависимости «амплитуда-скорость». А именно:

- Если постепенно увеличивать скорость обтекающего потока, то можно наблюдать следующую картину: режим флаттерных колебаний (которые носят характер «жесткого» возбуждения) сохраняется вплоть до $\nu = \nu^*$, где колебания «сорвутся» и восстановится невозмущенное состояние пластинки. При снижении скорости невозмущенное состояние становится устойчивой пока $\nu < \nu^*$. При $\nu = \nu^*$ амплитуда флаттерных колебаний скачком возрастает до конечного значения A_*. С дальнейшим уменьшением скорости амплитуда возрастает. Последнее указывает о величине амплитуд возмущений, необходимых для того, чтобы вызвать незатухающие колебания пластинки при докретических скоростях (причем, чем меньше скорость потока, тем большая амплитуда требуется) (Рис. 1, в, г).
- Помимо случаю «мягкого» возбуждения (Рис. 1, а), возмущения конечные, но достаточно малые), возможна также потеря устойчивости «в большом». Т.е. возможны флаттерные колебания в малой окрестности ν^* со сравнительно большой

амплитудой (верхняя кривая Рис.1, д, е). Нижние кривые Рис. 1, д, е соответствуют сравнительно малым возмущениям.

- На Рис. 1, ж возможно, что кривые пересекаются, и, следовательно, может быть возможно явление бифуркации (разветвление).

Отметим еще раз, что указанные новые явления в основном связаны с квадратичной аэродинамической нелинейностью.



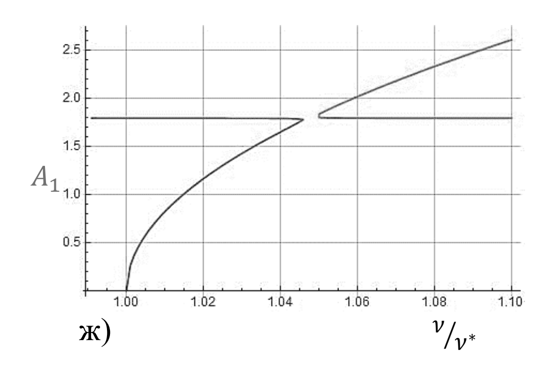


Рис. 1. Зависимость «амплитуда-скорость» нелинейных флаттерных колебаний тонкой пластинки.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Амбарцумян С.А.* Общая теория анизотропных оболочек. М.: Наука, 1974. 446с.
2. *Болотин В.В.* Неконсервативные задачи теории упругой устойчивости. М.: Физматгиз, 1961. 339 с.
3. *Вольмир А.С.* Нелинейная динамика пластин и оболочек. М.: Наука, 1972. 432с.
4. *Ashley H., Zartarian C.* Piston theory – a new aerodynamic tool for the aeroelastician. Journ. Aeronaut. Sci. 23, № 6, 1956.
5. *Багдасарян Г.Е.* Об устойчивости ортотропных пластинок, обтекаемых сверхзвуковым потоком газа // Изв. АН СССР ОТН Механика и машиностроение, 1961, № 4. СС. 92–98.
6. *Baghdasaryan G.Y., Mikilyan M.A. & Marzocca P.* Ferromagnetic plates and shells. Encyclopedia of Thermal Stresses, Springer Publishing House, R. Hetnarski Editor. 2014. PP. 1570–1580.
7. *Baghdasaryan G., Mikilyan M., Saghoyan R., Cestino E. Frulla G., Marzocca P.* Nonlinear LCO “amplitude-frequency” characteristics for

plates fluttering at supersonic speeds. International Journal of Non-Linear Mechanics,Volume 77, December 2015, Pages 51–60.

THE PROBLEM OF DYNAMIC INSTABILITY OF RECTANGULAR PLATE IN SUPERSONIC GAS FLOW

H. Shmavonyan

The problem of nonlinear flutter of orthotropic rectangular plate in a supersonic gas flow is considered. Investigations are done taking into account both types of nonlinearity: aerodynamic (square and cubic) and geometrical (cubic). It is shown that the account of aerodynamic nonlinearity (especially its asymmetrical square part) brings to the appearance of new types of dependences “amplitude-speed” as in up to critical stage, and the post-critical speeds.

Keywords: Flutter vibrations, dynamic instability of the plate.

УДК 004.853

Поступила: 11.02.2019г.
Сдана на рецензию: 13.02.2019г.
Подписано к печати: 20.02.2019г.

ENHANCING ADEQUACY OF SYSTEMIC CLASSIFIERS BY PERSONALIZATION AND CASES

N. Hakobyan

Department of Systemic Programming, Russian-Armenian University

hakobyannairi@gmail.com

ABSTRACT

We aim to enhance the adequacy of models of systemic classifiers in combinatorial chess-like problems that, currently, represent only the frames of classifiers commonly used by experts. In combinatorial problems precise records or texts of expert classifiers do not appear. Only the frames of classifiers are given in the handbooks, while their tuning is based on personalized learning, particularly, by cases. Taking into account the above mentioned, in the paper we present our advances in enhancing the adequacy of the frames of classifiers by integration with them the results of learning by cases as well as letting them to be some fuzzy by Zadeh.

Keywords: Fuzzy, Knowledge Presentation, Personalization, Expert Systems, Modelling

1. Introduction

We study the nature and the functions of cognition. There are different lines of researches in this area, e.g., machine learning solutions, such as neural networks concentrate on modeling of biological nature of human brain. We concentrate on studying of the nature of cognitive functions and the ways they are being processed.

Suggested in [1] Theory of Mental Doings provides ways for constructive and adequate models of various cognitive functions, e.g., classification, explanation, etc.

1.1 RGT Class and RGT Solver

We consider a class of combinatorial problems defined as problems where spaces of solutions are Reproducible Game Trees (RGT). RGT class includes important problems like computer networks intrusion protection, optimal management and marketing strategy elaboration in competitive environments, defense of military units from a variety types of attacks, communication problems, certain types of teaching, chess and chess-like games. [2]

In the continuous researches of our team a class of problems is defined as a class of unsolved combinatorial problems [3]. The class named RGT is a sub class of Optimal Strategy Provision (OSP) problems. RGT problems meet the following requirements:

- there are (a) interacting actors (players, competitors, etc.) performing (b) identified types of actions in the (c) specified types of situations;
- there are identified utilities, goals for each actor;
- actions for each actor are defined.

Actors perform their actions in specified periods of times and do affect situations by actions in time t by transforming them to new situations in time t+1 trying to achieve the best utilities on that situations (goals) by regularities defining these actions.

We have developed software, RGT Solver 2018, which can examine developed models for systemic classifiers of reducible to each other combinatorial problems, thus, letting to choose one of RGT problems, say chess, as the kernel for convenient experimenting followed by transition the results to other members of the class.

Algorithms and structures have been developed to provide an adequate description of systemic classifiers and to ensure their

correspondence [4], and their adequacy were demonstrated by experiments. [5]

Anyway, there are some concepts, namely, some personalized concepts, which cannot be described adequately in RGT Solver currently.

1.2 Fuzzy Logic and Related Work

Fuzzy logic emerged in the context of the theory of fuzzy sets, introduced by Zadeh (1965). A fuzzy set assigns a degree of membership, typically a real number from the interval [0,1], to elements of a universe. Fuzzy logic arises by assigning degrees of truth to propositions. The standard set of truth values (degrees) is [0,1], where 0 represents “totally false”, 1 represents “totally true”, and the other numbers refer to partial truth, i.e., intermediate degrees of truth. [6] (Fuzzy Logic, n.d.).

In [7], authors present a fuzzy implementation for the tactics of the game of chess. It models chess expert knowledge and uses an extension of fuzzy TPE systems to compute a fuzzy evaluation function for each chess piece in each play.

In [8,9] it was demonstrated that the use of fuzzy logic helps in solving problem of personalized concepts construction, allowing to define such concepts.

The direction is developed in Armenia. V. Vahradyan in his works [8,9] offers models of various personalized chess concepts. These models are compared with human estimation by following way: several experts were asked to estimate different situations (e.g., whether if there is a ‘beautiful mate’ or which fields are ‘weak’) and these results has been compared to computer estimation (by defined fuzzy model). Some positive results of comparison are provided in mentioned works.

In these works, some chess performances and solutions are observed, and as far as we use chess mainly as an RGT problem, so here we will also observe chess and chess concepts.

1.4 Current work

We aim to expand effectiveness of RGT Solver 18 by

1. Enhancing the adequacy of the classifiers integrating their current handbook based frames with personalized cases of the experts as well as diminishing their rigidness be letting them to be fuzzy

2. Introducing algorithms of matching RGT situations to the fuzzy and personalized classifiers

3. Provide experimental evidence that modified classifiers enhance the effectiveness of RGT Solvers

In this work we A) aim to expand RGT Solver 18, so that we can enhance definition of personalized classifiers, B) integrate their current handbook based frames with personalized cases of the experts, C) as well as diminishing their rigidness by letting them to be fuzzy by Zadeh D) for which we use the fuzzy logic and machine learning and offer new types of classifiers for them and E) introduce algorithms for matching them to situations, as well as F) provide experimental evidence of adequacy of modified classifiers.

2. Enhancing Classifiers by Fuzziness and Cases

We aim to enhance personalized RGT classifiers to make possible to define and match fuzzy types, such as ‘unexpected move’, ‘weak field’, and integrate them into Network of Classifiers of RGT Solver.

The current implementation of classifiers in RGT Solver do not provide appropriate ways to define fuzzy personalized classifiers, thus we integrated a new type of classifier and improved presentation of existing classifiers by adding new methods to deal with them.

2.1 Enhanced chess classifiers

In [4,5] chess classifiers to define chess and chess related knowledge were described, however they are not enough to present fuzzy personalized chess knowledge mentioned above, thus we define new classifiers which make possible using parameters required for fuzzy ones.

We start from integration of basic (nuclear) parametric chess concepts – nominal value of a figure and the power of a figure, which is equal to the

number of fields covered by that figure in a given position (hereafter we will name this concept nominal power of a piece).

```
{
   "id":"figureWithParameters",
   "type":"composite",
   "parent":"fieldWithParameters",
   "attributes":[
      {
         "id":"figureWithParameters.figure",
         "type":"minimal",
         "parent":"fieldWithParameters.field",
         "attributes":[
         ]
      },
      {
         "id":"figureWithParameters.nv",
         "type":"nuclear",
         "parent":"nv",
         "rule":{
            "operation":"IN",
            "value":"1,8"
         }
      },
      {
         "id":"figureWithParameters.np",
         "type":"nuclear",
         "parent":"np",
         "rule":{
            "operation":"IN",
            "value":"2,27"
         }
      }
   ]
}
```

Figure 1. Acquisition of nominal value and nominal power

```
{
   "id":"",
   "type":"compositeClassifier",
   "parent":"",
   "attributes":[
   ],
   "parameters":[
      {
         "id":"id1",
         "operation":"",
         "attribute":"",
         "filterList":[
         ]
      }
   ]
}
```

Figure 2. Construction of composite classifiers with parameters

On figure 1 the classifier‘ figure with parameters’ is provided in json form. This is a composite type, includes classifier ‘figure’ basic classifier as attribute which is described as in the previous presentations and two more nuclear classifiers are added– a) nominal value (nv), which is a popular estimation of figure’s power(e.g. 1 for pawn, 3 for knight and bishop, etc.) b) nominal power of a piece (np) (e.g., 2 for pawn, 27 for queen etc.).

2.2 Integration of ‘parameters’ method in classifiers

By investigating different subjective concepts’ fuzzy constructions ([8,9]) we concluded, that some classifiers will need to be connected with already matched instances – for example, to calculate M-P estimation of the

position we need to have all actual costs (will be described later in chapter 4) of figures. The idea is to include a set of classifiers with some condition set by experts and to apply some operation(s) on them, which will return some value for parametric classifier value (parameter).

We have added method ‘parameters’ in all types of classifiers to handle this problem.

On figure 2 construction for composite classifier with new method is given.

First 4 keys (‘id’, ‘type’, ‘parent’ and ‘attributes’) are the same as in previous version. The connection between classifier and instances is handled by ‘parameters’ section, which implements the following idea: situation (as a classifier represents itself and the current matched in it other classifier instances)can be used as an attribute for other classifiers which are being matched on that situation. For example, a parameter can describe the set of all classifier instances ‘field Under Attack’ on the given situation.

Methods can be applied on the retrieved from situation instances. ‘Parameters’ section represents a list. Each of items in the list has the following fields: identifier (‘id’), operation type (‘operation’), which should be applied on the set of received from situation instances. This part is similar to group by method of SQL (The GROUP BY statement is often used with aggregate functions to group the result-set by one or more columns [10]). Operation are be applied over the attribute, which ID will be written in “attribute” inside “parameters”. ‘Operation’ can be one of the following:

a) ‘Min’ - getting the minimal value of some attribute of all instances with same condition

b) ‘Max’ – analogically

c) ‘Sum’ – sum of all values of some attribute

d) ‘Count’ – count of instances satisfying given condition

If only certain part of instances is needed filters can be applied to them.

The usage of all the components is demonstrated during the experiments.

2.3 Integration of Fuzzy classifiers in Solvers

We introduce a new type of classifiers (fuzzy classifier) that we integrated in Solver analogous to fuzzy structures in [8, 9].

Fuzzy classifiers are similar to classifiers with parameters, which were described in previous section, but also a list of rules, each of them must be satisfied for classifier to be matched.

A rule consists of an expression, an operation (e.g., '>', '<=' etc.) and a value (parameter).Finding of optimal value for the given rule is discussed below.

2.4 Enhancing Adequacy of Classifiers by Cases

As described in chapter 2.3, each rule includes an expression and some threshold, so if the expression value is above (or below, or equal etc.) the threshold value, then the classifier is matched.

In [8, 9] experts provide their estimation of the threshold, so one of the ways to set the threshold is get directly from experts. We provide an enhanced solution calculates the threshold itself based on the input from experts. After fuzzy classifier construction (with starting fuzzy parameter set by expert) some cases are shown to the expert to estimate regarding to what classifier is being tested (e.g., whether the given field is 'weak', or was the move an 'unexpected' one etc.). After several examples and collected data, machine learning algorithm calculates or adjusts the threshold value.

Afterwards, some more examples are shown to the experts for the same purpose and the results are compared with previous ones to experiment the enhanced classifier accuracy.

3. Matching of Fuzzy Classifiers and Classifiers with 'parameters'

As described in chapter 2, classifiers used in Classifiers with 'parameters' (CWP) and newly added fuzzy classifiers must be matched before considering the matching of CWP and fuzzies. This is done because

already matched instances of the current situation are required for matching the new ones.

Thus, matching of CWP and fuzzy classifiers cannot be done with a regular matching approach as it is done for most of classifiers types. It would be similar to matching of dynamic classifiers and matching of negated concepts [11].

Matching of composite classifiers and dynamic CWP is done just as previously, except the 'parameters' part.

The program will go through all elements of 'parameters' list. For each of them, the program will get all instances which satisfy to all the filters from the list 'filters' from the situation in which the current classifier is and then will apply 'operation' on 'attribute'.

Matching of fuzzy classifiers would be similar to CWP matching, but with also checking the rule – if the rule is satisfied, than classifiers is matched.

4. Experiments

We will go over acquisition and matching to fuzzy classifier 'unexpected move', which is described in [10].

4.1 Construction

4.1.1 Actual cost of piece

For mathematical formalization of mentioned concepts, authors use the previously developed material-positional (M-P) estimate of the position [12]. It is based on the fuzzy approach to the concept of "the presence of pieces on the board" allowing, particularly

$$V_R(f_j^c) = V_N(f_j^c) * \mu(f_j^c)$$

Where $V_N(f_j^c)$ is the nominal cost of j piece of color c and $\mu(f_j^c)$is the membership function of fuzzy set. Nominal values for pieces are following: pawn – 1, bishop/knight – 3, rook – 5, queen – 8, "The presence of pieces on the board" was defined as follows:

$$\mu(f) = \frac{\mathrm{M_R}(f)}{\mathrm{M_T}(f)}$$

Where $M_R(f)$ is the power of set of fields covered by the piece f in a given position and $M_T(f)$– the power of usual set of fields covered by the piece f on the center of empty chessboard. [8]

Nominal value of the piece and $M_T(f)$ can be easily imported to Solver as nuclears.

Issues appear while trying to integrate$M_R(f)$ to Solver. For each figure X, we must get a set of classifiers, which contains all classifiers 'move Figure' (actions) for figure X. Method 'Count' on that set will calculate number of fields under attack and be equal to $M_R(f)$.The acquired JSON presentation of this classifier is provided on figure 3.


```
{
  "id":"powerOfFigure",
  "type":"compositeClassifier",
  "parent":"",
  "attributes":[
    {
      "id":"powerOfFigure.figure",
      "type":"minimal",
      "parent":"figure",
      "attributess":[
      ]
    }
  ],
  "parameters":[
    {
      "id":"powerOfFigure.param",
      "operation":"count",
      "attribute":"moveFigure",
      "filterList":[
        "moveFigure.actor.cx=powerOfFigure.figure.cx",
        "moveFigure.actor.cy=powerOfFigure.figure.cy"
      ]
    }
  ]
}
```


Figure 3. Acquisition of power of figure

Matching of the 'power of field' is performed after all instances of 'fields under attack' are matched. As described before, previous classifiers get matched in regular matching, after what the classifier 'power of figure' is matched.

On figure 4, acquisition of actual cost of a piece is introduced. The classifier has attributes 'power of figure' and 'figure', where the figure must

be same (it is being checked inside attributes of power Of Figure, the check is hidden for the easiness). It has also a nuclear classifier as an attribute, which value is equal multiplication of nominal value and power of the figure divided by nominal power of the figure.


```
⊟{
  "id":"actualCostOfFigure",
  "type":"compositeClassifier",
  "parent":"",
  "attributes":⊟[
    ⊟{
      "id":"actualCostOfFigure.figure",
      "type":"composite",
      "parent":"figureWithParameters",
      "attributes":⊟[
      ]
    },
    ⊟{
      "id":"actualCostOfFigure.powerOfFigure",
      "type":"compositeClassifier",
      "parent":"powerOfFigure",
      "attributes":⊞[1]
    },
    ⊟{
      "id":"actualCostOfFigure.actualCost",
      "type":"nuclear",
      "parent":"",
      "rule":⊟{
        "operation":"=",
        "value":"actualCostOfFigure.figure.nv*actualCostOfFi
        gure.powerOfFigure.param/actualCostOfFigure.figure.n
        p"
      }
    }
  ]
}
```


Figure 4. Acquisition of actual cost of a piece


```
⊟{
  "id":"mpEstimation",
  "type":"compositeClassifier",
  "parent":"",
  "attributes":⊟[
    ⊟{
      "id":"mpEstimation.rate",
      "type":"nuclear",
      "rule":⊟{
        "operation":"=",
        "value":"mpEstimation.white-mpEstimation.black"
      }
    }
  ],
  "parameters":⊟[
    ⊟{
      "id":"mpEstimation.white",
      "operation":"sum",
      "attribute":"situation.actualCostOfFigure",
      "filterList":⊟[
        "situation.actualCostOfFigure.figure.fc=1"
      ]
    },
    ⊟{
      "id":"mpEstimation.black",
      "operation":"sum",
      "attribute":"situation.actualCostOfFigure",
      "filterList":⊟[
        "situation.actualCostOfFigure.figure.fc=2"
      ]
    }
  ]
}
```


Figure 5. Acquisition of M-P estimate of the position

Material-Positional (M-P) estimate of the position M-P estimate of the position is calculated as the difference between the sums of real values of pieces of both colors:

$$\Delta V_R(f) = \sum_{i=1}^{16} V_R(f_i^{c1}) - \sum_{i=1}^{16} V_R\,(fj^{c2})$$

The formula shows the difference between the amount and activity of the pieces of both sides.

On figure 5 acquisition of M-P estimate of the position is provided.

During the first iteration, the program matches mp Estimation . white and mp Estimation. black which are summary of all figure’s actual costs respectively for white and black players.

4.1.2 Unexpected Move

Then it comes estimation of the “degree of expected move” when the change is positive as follows:

$$\mu_E(t) = \frac{\Delta V_R(f,t) - \Delta V_R(f,t-1)}{V_N(Q)}$$

Where$V_N(Q)$is the nominal value of the most valuable piece – the queen. In other words, the maximal possible loss (purchase) for one move and $V_R(f,t)$ is M–P estimate of the position after the move t.

The negative changes in this indicator can be considered as "the degree of unexpectedness of the move" and specified as follows: $\mu_{UE}(t)$

Classifier ‘unexpected Move’ is fuzzy but is also dynamic type, so it would be the type ‘fuzzy-dynamic’, which will include all components from dynamic classifier and ‘rule’ from fuzzy types. ‘rule’ will count difference of mp-estimation of situation after the action (move figure) is applied and mp-estimation of situation of situation before the action is applied and will divide it all to 8 (nominal value of queen), as it is shown in the last equation. The expression value will be compared with 0 (value set by expert) and if the value is less then 0 classifier unexpected Move would be matched.

Acquisition of ‘unexpected Move’ is provided on figure 6.

5. Conclusion

A. New models and enhancements of classifiers for RGT problems have been proposed, which allow to define and enhance personalized classifiers.

B. Algorithms for matching described classifiers to situations and for improvement of fuzzy classifier threshold values calculation are provided.

```
⊟{
  "id":"unexpectedMove",
  "type":"fuzzyDynamicClassifier",
  "parent":"",
  "action":⊟{
    "id":"unexpectedMove.moveFigure",
    "type":"action",
    "parent":"moveFigure",
    "precondition":"...",
    "postcondition":"..."
  },
  "precondition":⊟[
    ⊟{
      "id":"unexpectedMove.precondition.mpEstimation",
      "type":"compositeClassifier",
      "parent":"",
      "attributes":⊞[1],
      "parameters":⊞[2]
    }
  ],
  "postCondition":⊟[
    ⊟{
      "id":"unexpectedMove.postcondition.mpEstimation",
      "type":"compositeClassifier",
      "parent":"",
      "attributes":⊞[1],
      "parameters":⊞[2]
    }
  ],
  "rule":⊟{
    "expression":"(unexpectedMove.postcondition.mpEstimation.r
    ate-unexpectedMove.precondition.mpEstimation.rate)/8",
    "operation":"<",
    "threshold":"0"
  }
}
```


Figure 6. Acquisition of unexpected move fuzzy classifier

C. Experiment was provided over personalized concept ‘unexpected move’ to demonstrate enhanced adequacy of systemic classifiers by personalized fuzzy classifiers and cases.

Acknowledgments

Author expresses his deep gratitude to PhD Sedrak Grigoryan for supervising the work.

BIBLIOGRAPHY

1. *Pogossian E.* Constructing adequate mental models, Transactions of IIAP NAS RA, Mathematical Problems of Computer Sciences, vol. 50. PP. 35–51 (2018).
2. *Grigoryan S.* Research and development of algorithms and programs of knowledge acquisition and their effective application to resistance problems", PhD, Yerevan, Armenia (2016).
3. *Pogossian E.* Combinatorial Game Models for Security Systems" in NATO ARW on "Security and Embedded Systems, Porto Rio, Patras, Greece (2005).
4. *Grigoryan S., Hakobyan N.and Vrtanesyan H.* Object – oriented modeling of matching to systemic classifiers, Transactions of IIAP NAS RA Mathematical Problems of Computer Sciences, vol. 48. PP. 115–121 (2018).
5. *Grigoryan S., Hakobyan N.* Experimenting with acquisition of and matching to Systemic Classifiers, Transactions of IIAP NAS RA Mathematical Problems of Computer Sciences, vol. 50. PP. 96–103 (2018)
6. Fuzzy Logic. (n.d.). Retrieved 1 27, 2019, from Bryant University: http://plato.stanford.edu/entries/logic-fuzzy/
7. *Carvalho J. P., Horta N. C., Yan D.C., Silva e P. R.* Fuzzy Chess Tactics", Conference: Proceedings of the Joint 4th Conference of the European Society for Fuzzy Logic and Technology and the 11th Rencontres Francophones sur la Logique Floue et ses Applications, Barcelona, Spain, September 7–9 (2005).
8. *VahradyanV.* A Model of a High Level Chess Concept "Beautiful Mate, Computer Science and Information Technologies (2007).

9. *Hakobyan N., Vahradyan V.* A model of high level chess concept “attack on a weak square”, Mathematical Problems of Computer Science, vol. 46. PP. 92–106 (2016).
10. https://www.w3schools.com/sql/sql_groupby.asp
11. *Grigoryan S.* Dynamic knowledge integration into HBD knowledge presentation model, Computer Science and Information Technologies (2017).
12. *Krogius N.* Psychology in Chess (1976)
.

ПОВЫШЕНИЕ АДЕКВАТНОСТИ СИСТЕМНЫХ КЛАССИФИКАТОРОВ С ПОМОЩЬЮ ПЕРСОНАЛИЗАЦИИ И ПРИМЕРОВ

Н.П. Акопян

АННОТАЦИЯ

В данной статье мы стремились повысить адекватность моделей системных классификаторов в комбинаторных шахматоподобных задачах, которые в настоящее время представляют только те рамки классификаторов, которые обычно используются экспертами. В комбинаторных задачах точные записи или тексты экспертных классификаторов не встречаются. В некоторых руководствах приведены только рамки классификаторов, а их настройка основана на индивидуальном обучении, в частности, обучении с помощью примеров. Принимая во внимание вышеупомянутое, в статье представляются наши достижения в повышении адекватности структур классификаторов путем интеграции с ними результатов обучения по примерам, а также допускается нечеткость классификаторов согласно Заде.

Ключевые слова: нечеткая логика, представление знаний, персонализация, экспертные системы, моделирование.

УДК 004.9

Поступила: 21.02.2019г.
Сдана на рецензию: 25.02.2019г.
Подписано к печати: 05.03.2019г.

REMOTE SWAPPING MECHANISM OVER RDMA: SPEED-UP MEMORY INTENSIVE APPLICATIONS IN VIRTUALIZED ENVIRONMENTS

A. Kocharyan

Institute for Informatics and Automation Problems

ar_kocharyan@ipia.sci.am

ABSTRACT

Generally, the swapping is considered as an unwanted operation and everybody tries to reduce the swap activity. However, in modern computing infrastructures the networking technologies are providing high speed connections to remote machines, especially to the memory of remote machines. In this regard, it became efficient to use the memory of remote machine as a swap device. In this paper we will introduce a remote swapping mechanism which is capable to use various network technologies and protocols. The solution aims to add a layer of swap device in Virtual Machines (VMs) which is much faster than local disk and may help to overcome the memory shortage of VMs, where the VM and the application running in it are not aware of modifications.

Keywords: Virtualization, memory management, remote swapping.

1. Introduction

The permanent growth of the resource consumption by modern scientific applications brings to large increase of the scientific

computational infrastructures. The resource management and optimization became a crucial for such e-infrastructures. In this regard, many of providers adapt virtualization technologies to tackle this issue [1]. Virtualization allows hosting several VMs on single host. The VMs run parallelly and isolated one from another. Resource optimization in virtualized environments achieved mainly via dynamic resource management, when the resources are dynamically balanced among VMs depend on their needs [2]. The most valuable resources in large scale datacenters are Memory and CPU. Resource management in terms of Memory is much more complex than in case of memory. It is straightforward to share CPU among VMs over time and develop various schedulers to overcome this issue. However, it is not the case with memory. It is hard to redistribute memory because wrong distribution might cause a significant overhead in terms of running time of the application [2]. Thus, the swapping to local disk is a bottleneck of every system. All the providers try to minimize the swap activity and the main reason is the extremely slow speed of read and write operations to local disk. To overcome this issue, providers overprovision VMs with extra memory taking into consideration the memory peaks they might face during runtime. As a result, they end-up with the big chunks of unused memory in every VM. The figure 1 shows the difference between reserved and used resources in one of the datacenters maintained by Twitter. In this paper, it is proposed a solution to overcome the issues of slow swapping. The paper suggests to externalize the swap device and use fast memory on remote device by exploiting the existing modern networking technologies (such as Ethernet 1Gbit, Ethernet 10Gbit, InfiniBand 32Gbit).

The solution has been examined with various scientific applications in real life conditions as well as with synthetic benchmarks where the memory behavior of the application is known in advance and allows to evaluate the speed of the remote memory.

During the experiments, the proposed solution proved the effectiveness of the solution and helped to boost application up to 25%.

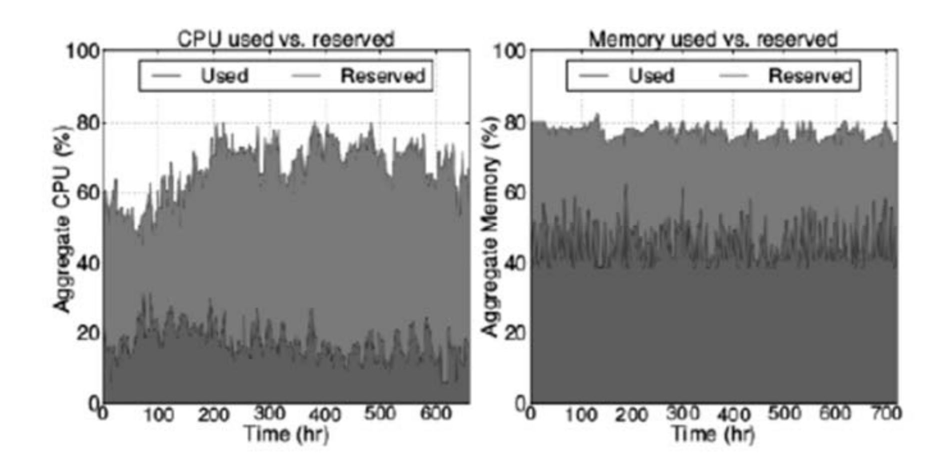


Figure 1. Resource utilization over 30 days for a large production cluster at Twitter managed with Mesos.

2. Background and Motivation

2.1 Swapping

Memory paging (or swapping) is a predicted behavior of operating system (OS) [3] in case of memory shortage. When the OS sees that the memory is not enough to store the page and page fault is occurred the OS activates linux kernel module called *kswapd*which is responsible for paging and it sends the pages to the local disk. In the meantime, it updates page table to store the location of swapped pages. In case if the application wants to access a swapped page the OS recall the page to the memory and swap it with another page which is not used by any application at current moment. Generally, OS may be assigned with several swap partitions or devices. Every partition has its priority and OS sends pages to the device with the highest priority.

2.2 Networking technologies

Modern networking technologies provide reliable connection between several machines and maintain high speed network connection.

The most popular type of network is Ethernet network and most of the computers are equipped with ethernet cards nowadays. However, more advanced networking technologies exist. Infiniband [4] is high bandwidth and low latency network that interconnects HPC, Big data and many other types of cluster worldwide. The nodes are connected using Host Channel Adapters (HCA). The main advantage of InfiniBand networks is the Remote Memory Direct Access (RDMA) [5] technologies. It allows to access the data in the memory of remote host without interfering with the remote CPU. This helps to decrease the overhead on the remote CPU and the data is processed using processing power on the InfiniBand cards. This is a key technology that speeds up many Big Data processing problems.

2.3 Motivation

Remote swapping is a key to amortize the overhead caused by swapping activity. The modern technologies (such as RDMA) allow to minimize the overhead on remote CPU and benefit from unused memory of remote physical machine. The remote swapping mechanism configured to work with various networking technologies is capable to optimize the memory consumption in virtualized environments. A microbenchmark, which is a simple application that maintain an array of pages and loops the array accessing every page, has been developed to evaluate the latency between various swapping technologies compared to local memory. The Figure 2 shows the results of the comparison. It becomes obvious that even general networking technologies such as 1Gbit Ethernet card is much faster than local disk. Moreover, in case of InfiniBand network with RDMA technologies the overhead is really insignificant compared to local disk and it about 20 times faster than local disk.

The results prove that remote swapping may serve as superfast swapping device and amortize the overhead of swap activity.

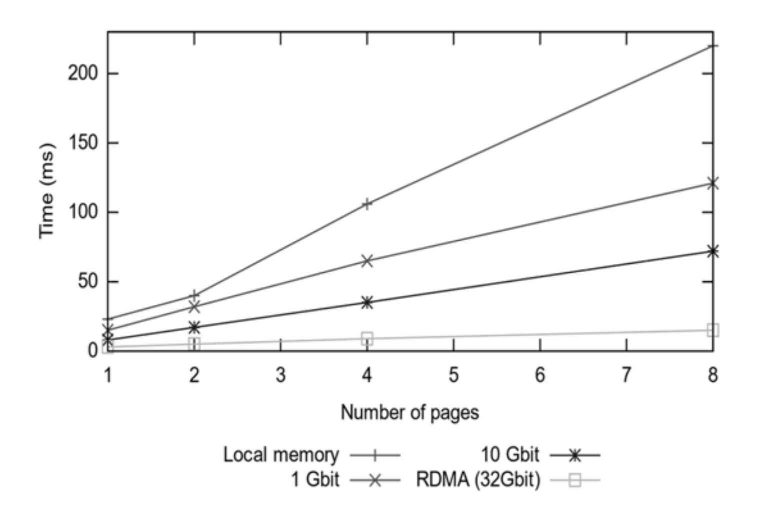


Figure 2. Different swap device latency compared to local memory.

2.4 Related work

There have been many works dedicated to remote swapping. Most of them are proposing solution based on ethernet networks [6,7]. However, such network technologies may severe in extreme cases and would not bring the desirable speed up to the application and may be used when the amount of swapped data is small. On the other hand, there are solutions that use InfiniBand network with RDMA technologies [8,9]. The main difference between of proposed solution and existing solutions is the abstracted layer of network technologies. The mechanism is capable to use any networking facilities and even mount several devices using different network facilities.

3. Implementation

The solution is implemented in linux kernel as a loadable module. This allows to load the module in the system without making intrusive changes in the kernel of the OS.

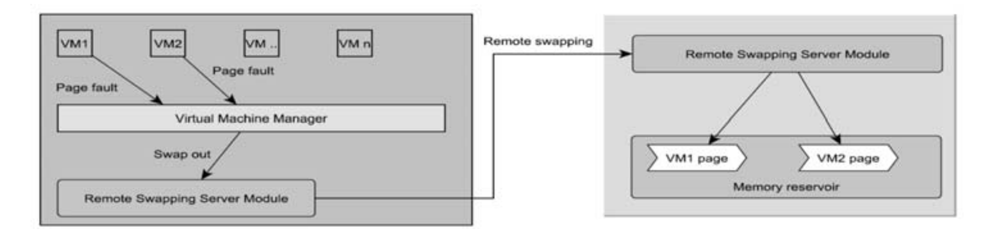


Figure 3. Architecture of the Remote Swapping mechanism

The solution is composed of two main parts: *Serve-side* and *Client-side*. The server-side module is installed in on the machine which is going to use (borrow) remote memory. The module will mount a swap device to the Virtual Machine Manager (VMM) which will distribute remote swap device resource among VMs. As soon as VM is equipped with remote swap device and it has the highest priority among swap devices, the pages that are sent to swap will be sent to the memory of remote machine. The Client-side module should be running on client machine which is giving its memory as swap device. The module will be in charge of granting access in the memory of client machine which should be allocated in advance. The Figure 3 is describing the architecture of remote swapping mechanism.

4. Evaluation

The above described results are the average of 10 experiments (each experiment has been repeated 10 times). The standard deviations are not presented due to its insignificance.

The following scientific application has been chosen to evaluate the remote swapping mechanism:

- Grass [10] – Geo image processing application that has various workload, in the paper presented the horizon angle computation, due to its complex memory behavior.
- Blass [11] – is a library used for solving linear algebra equations. The matrix multiplication case has been chosen as a use case.

- Gromacs [12] – is a molecular dynamics package mainly designed for simulations of proteins.

The performance degradation on client side has been evaluated using HPL [13] benchmark which is the official benchmark of top 500 list.

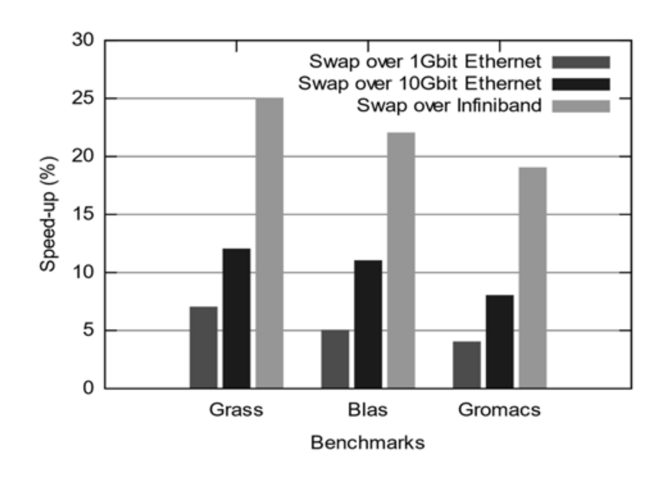


Figure 4. Performance speed-up compared to unchanged system.

The figure 4 shows that the performance boost might go up to 25% in case of remote swapping over RDMA which is the benefit of amortizing the overhead of accessing local disk (which is about 20 times slower than remote memory over RDMA).While the benefits of using remote memory via 10Gbit ethernet network are varying between 9–12%, which is still significant performance boost. Even in case of the general 1Gbit ethernet network we can notice performance boot between 4–7%.

In the meantime, it is predictable that this operation should have side effects on client machine. The performance degradation, in terms of performed operation per time period, has been evaluated using HPL benchmark. The results are presented in the Figure 5. Where we can notice totally insignificance effect from swap over RDMA while the performance

caused by swapping over Ethernet is below 5%, which is much lower than the performance boost on the Server-side.

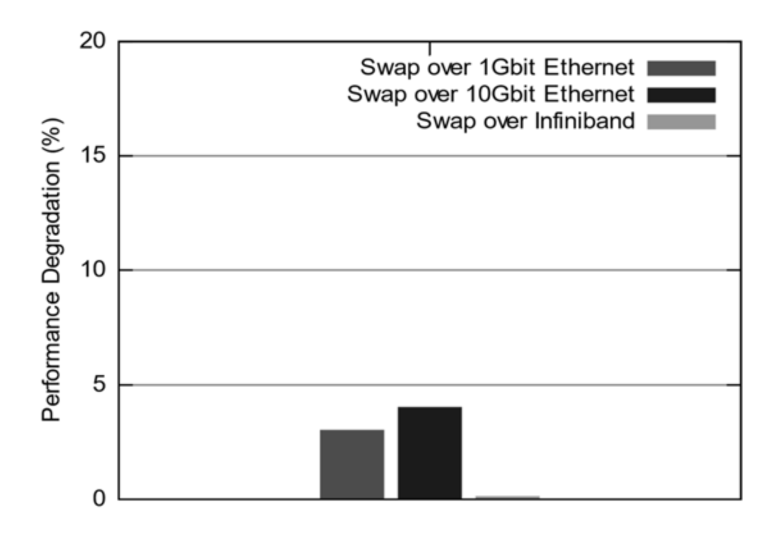


Figure 5. Client-side machine performance degradation.

5. Conclusion

This paper introduces the remote swapping mechanism which is not tied to any networking technologies. The proposed solution has been designed and implemented in linux OS as a kernel module to reduce code intrusiveness of the solution.The experiments showed that the remote swapping mechanism may result up to 25% performance boot in case of swap over RDMA while causing insignificant performance degradation (<1%) on the silverside. It is planned to integrate the proposed solution to memory management system and organize dynamic remote swapping mechanize that will be abstracted in the OS level.

REFERENCES

1. VMWARE INC. Resource Management with VMware DRS. Whitepaper, 2006.
2. *Waldspurger C.A.* Memory resource management in VMware ESX server, SIGOPS Operting Systems Review 36(SI), PP. 181–194, 2002.
3. Linux memory management. http://www.tldp.org/LDP/tlk/mm/memory.html
4. InfiniBand Trade Association. The Infini Band Architecture. http://infinibandta.org/specs.
5. *Kalia A., Kaminsky M., David G.* Andersen-Using RDMA efficiently for key-value services, SIGCOMM '14, Pages 295–306.
6. *Anderson E.A. and Neefe J. M.* An exploration of network RAM. Technical Report UCB/CSD-98-1000, EECS Department, University of California, Berkeley, Dec 1994.
7. *Newhall T., Finney S., Ganchev K. and Spiegel M.* Nswap: A network swapping module for Linux clusters. In Euro-Par, 2003
8. *Liang S., Noronha R., Panda D.K.* Swapping to remote memory over InfiniBand: An approach using a high performance network block device, Proc. IEEE Int. Conf. Cluster Comput, PP. 1–10, 2005.
9. *Juncheng Gu, Youngmoon Lee, Yiwen Zhang, Mosharaf Chowdhury and Kang G.* Shin: Efficient Memory Disaggregation with Infiniswap, 14th USENIX Symposium on Networked Systems Design and Implementation (NSDI ’17), Page(s): 649-667
10. *Neteler M., Bowman M.H., Landa M., Metz M.* GRASS GIS: a multipurpose Open Source GIS, Environmental Modelling& Software, vol. 31, PP. 124–130, 2012.
11. *Blackford S., Demmel J., Dongarra J., Duff I., Hammarling S., Henry G., Heroux M., Kaufman L., Lumsdaine A., Petitet A., Pozo R., Remington K.* An Updated Set of Basic Linear Algebra Subprograms. ACM Trans. Math. Soft, PP. 135–151, 2. 2002.

12. *Yu M.* (2012). Computational Modeling of Protein Dynamics with GROMACS and Java. Master's thesis. San Jose State University. P. 267.
13. *Jack J.* Dongarra Piotr Luszczek Antoine Petitet, The LINPACK Benchmark: past, present and future: Concurrency and Computation Practice and Experience Volume15, Issue9, 10 August 2003, Pages 803–820.

УДАЛЕННЫЙ МЕХАНИЗМ ПОДКАЧКИ С ПОМОЩЬЮ RDMA: УСКОРЕНИЕ ПРОГРАММЫ, ИСПОЛЬЗУЮЩЕЕ БОЛЬШОЙ ОБЪЕМ ПАМЯТИ В ВИРТУАЛИЗИРОВАННЫХ СРЕДАХ

А.С. Кочарян

АННОТАЦИЯ

В данной статье рассматривается удаленный механизм подкачки с помощью RDMA. Обычно подкачка – нежелательная операция, и каждый пытается уменьшить ее активность. Однако в современных вычислительных инфраструктурах сетевые технологии обеспечивают высокоскоростное соединение с удаленными машинами, особенно с памятью удаленных машин. В связи с этим стало эффективно использовать память удаленного компьютера в качестве swap-устройства.

В настоящей статье представляется механизм удаленной swap, который способен использовать различные сетевые технологии и протоколы. - Цель решения – это добавить такой механизм подкачки в виртуальные машины (ВМ), который намного быстрее, чем локальный диск, и поможет преодолеть нехватку памяти виртуальных машин, когда виртуальная машина и работающее на ней приложение не модифицированы.

Ключевые слова: виртуализация, управление ОЗУ, удаленная подкачка.

УДК 004.051

Поступила: 13.03.2019г.
Сдана на рецензию: 18.03.2019г.
Подписано к печати: 01.04.2019г.

WORD EMBEDDINGS FOR THE ARMENIAN LANGUAGE: INTRINSIC AND EXTRINSIC EVALUATION

K. Avetisyan, T. Ghukasyan

Ivannikov Laboratory for System Programming
at Russian-Armenian University, Yerevan, Armenia

karavet@ispras.ru, tsggukasyan@ispras.ru

ABSTRACT

In this work, we evaluate and compare existing word embedding models for the Armenian language, intrinsically and extrinsically. In addition, new embeddings are presented, trained using GloVe, fastText, CBOW, SkipGram algorithms. We adapt and use the word analogy task in intrinsic evaluation of embeddings. For extrinsic evaluation two tasks are employed: morphological tagging and text classification. Tagging is performed on a deep neural network, using ArmTDP dataset. For text classification, we created a corpus of news texts categorized into 7 classes. The datasets are made public to serve as benchmarks for future models.

Keywords: word embeddings, word analogies, morphological tagging, text classification

1. Introduction

Dense representations of words have become an essential part of natural language processing systems. For many languages, there are various

models available publicly for embedding a word to a continuous vector space, and choosing which one to use for a given task might often be problematic as embedding's performance strongly depends on the nature of the task. This work evaluates and compares the performance of word embedding models available for the Armenian language, aiming to provide insight into their performance on a diverse set of tasks. In addition, benchmark datasets and methods are established for evaluation of future models.

To the best of our knowledge, the first attempt to training dense representations for Armenian words was the 2015 SkipGram model by YerevaNN, trained on 2015 October 2 dump of Wikipedia. In 2017, Facebook released fastText models trained on Wikipedia for 90 languages [1], including Armenian. A year later, Facebook released another batch of fastText embeddings, trained on Common Crawl and Wikipedia [2]. Other publicly available embeddings include 4 models, released in 2018 as part of the pioNER project [3], using GloVe method [4] and trained on encyclopedia, fiction and news data. In addition to these 7 models, we present newly trained GloVe, fastText, CBOW embeddings. All mentioned models were included in our evaluation experiments.

There is no universal way to compare the quaility of word embeddings [5]. Evaluation methods are grouped into two categories: (1) intrinsic, which test word relationships directly through word vectors, and (2) extrinsic, which test word vectors in downstream tasks such as morhological tagging, syntactic parsing, entity recognition, text categorization etc. For intrinsic evaluation, we proceeded with word analogy questions. The Semantic-Syntactic Word Relationship test set (hereinafter referred to as "word analogy task") was first introduced in 2013 for English word vectors by Mikolov et al [6], then adapted for other languages for Czech [7], German [8], Italian [9], French, Hindi, Polish [2] etc. There are also analogy questions created for Armenian by YerevaNN, but these are not a direct adaptation of the word analogy task and contain

mostly semantic analogies[1]. In this work, we present and use a fully translated and adapted version of the dataset.

In extrinsic evaluation, the performance of models varies depending on the nature of task (e.g. syntactic vs semantic). With that in mind, we selected 2 tasks for our experiments: morphological tagging and classification of texts. The first is aimed to evaluate the applicability of models in syntax-related tasks, while the second is mostly focused on measuring their semantic properties. Morphological tagging experiments are performed on a deep neural network, using the ArmTDP dataset [10]. For text classification, we created a dataset of over 12000 news articles categorized into 7 classes: sport, politics, art, economy, accidents, weather, society.

The main contributions of this paper are (I) the word analogy task adapted for the Armenian language, (II) a corpus of categorized news texts, (III) GloVe, fastText, CBOW, SkipGram word representations, and (IV) performance evaluation of existing and proposed Armenian word embeddings. The datasets and embeddings are available on GitHub[2].

The paper has the following structure: the 2nd section describes existing and proposed models, the 3rd and 4th sections focus on the intrinsic and extrinsic evaluation respectively, providing the results of experiments at the end of each section.

2. Models

2.1. Existing Models. There already exist several trained models for Armenian.

fastText Wiki[3]: Published by Facebook in 2017, these embeddings were trained on Wikipedia, using SkipGram architecture [11] with window size 5, dimension 300, and character n-grams up to length 5.

[1] https://github.com/YerevaNN/word2vec-armenian-wiki/tree/master/analogies
[2] https://github.com/ispras-texterra/word-embeddings-eval-hy
[3] https://fasttext.cc/docs/en/pretrained-vectors.html

fastText CC[4]: Published by Facebook in 2018, these embeddings were trained on Wikipedia and Common Crawl, using CBOW architecture with window size 5, dimension 300, and character n-grams up to length 5.

SkipGram YerevaNN[5]: Published by YerevaNN in 2015, these embeddings were trained on Armenian Wikipedia using Skip-Gram with dimension 100.

GloVe pioNER[6]: Four models released by ISP RAS team, trained for 50, 100, 200 and 300 dimensions, using Stanford's GloVe algorithm with window size 15. These were trained on Wikipedia, parts of The Armenian Soviet Encyclopedia and EANC, news and blog texts.

2.2. Proposed Models. Apart from existing embeddings, we present 3 new models:

- 200-dimensional *GloVe* vectors, trained with window size 80;
- 300-dimensional *CBOW* and *Skip Gram* vectors, trained with window size 5 and minimum word frequency threshold of 5;
- 200-dimensional *fastText* vectors, trained using SkipGram architecture, window size 3 and character n-grams up to length 3.

The training data for these models was collected from various sources (Fig. 1):

a. Wikipedia;

b. texts from news websites on the following topics: economics, international events, art, art, sports, law, politics, as well as blogs and interviews;

c. HC Corpora collected by Hans Christensen in 2011 from publicly available blogs and news, using a web crawler;

d. fiction texts taken from the open part of the EANC corpus [12];

e. digitized and reviewed part of Armenian soviet encyclopedia (as of February 2018) taken from Wikisource[7].

---

4 https://fasttext.cc/docs/en/crawl-vectors.html
5 https://github.com/YerevaNN/word2vec-armenian-wiki
6 https://github.com/ispras-texterra/pioner
7 https://hy.wikisource.org/wiki/ Հայկական_սովետական_հանրագիտարան

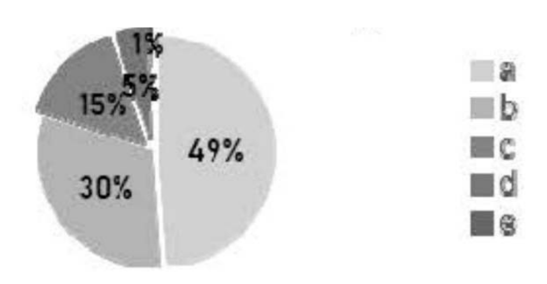


Figure 1. Origin of Training Data.

The texts were preprocessed by lowercasing all tokens and removing punctuation, digits. The final dataset consisted of 90.5 million tokens. Using the dataset, we trained word embeddings with GloVe, fastText, CBOW and Skip-gram methods. The specified hyperparameters were chosen based on the results on analogy questions.

All fastText models come in .text and .bin formats. To try to take advantage of fastText's ability to generate vectors for out-of-vocabulary words, we separately tested .bin models as well.

3. Intrinsic Evaluation

To evaluate word vectors intrinsically we used an adaptation of the word analogy task introduced by Mikolov et al in 2013 for English word vectors. The original dataset contains 19544 semantic and syntactic questions divided into 14 sections. A question represents two pairs of words with the same analogy relationship: the first word is in the same relation with the second one as the third one with the fourth. Sections are divided into semantic and syntactic categories: first 5 sections test semantic analogies, and the rest syntactic.

In order to make a similar set for our experiments, we mostly directly translated original's examples into Armenian, using dictionaries[8,9] and

[8] https://bararanonline.com
[9] https://hy.wiktionary.org

Wikipedia[10] as a reference. Several issues arose during translation. In some country-capital pairs, such as *Algeria - Algiers,* the country and its capital have the same translation (*Ալժիր*), thus all lines including such pairs were removed in order to restrict the task strictly to solving analogies. In other sections, the examples that didn't have distinct Armenian translation (e.g. *he-she, his-her*), were replaced by a different pair of words. Some country or city names like *Thailand* have multiple translations in Armenian (*Թաիլանդ, Թայլանդ*), and Wikipedia was used to resolve this kind of situations. To make a localized adaptation, the *city-in-state* category was replaced by regions of Armenia and their capitals, similar to adaptations for other languages [2]. The *comparative* section was fully removed because comparative adjectives in Armenian are multi-word expressions. In the *present-participle* section, the participles in *-ող* (ենթակայական) were used. While translating country-nationality analogies, we used corresponding demonyms instead of the ethnic majority's name.

Table 1. Sections of Word Analogy Task.

Section	Questions	Type
capital-common-countries	506	Semantic
capital-world	4369	Semantic
currency	866	Semantic
city-in-state	56	Semantic
family	506	Semantic
gram1-adjective-to-adverb	992	Syntactic
gram2-opposite	812	Syntactic
gram3-superlative	1122	Syntactic
gram4-present-participle	1056	Syntactic
gram5-nationality-adjective	1599	Syntactic
gram6-past-tense	1560	Syntactic

[10] https://hy.wikipedia.org

gram7-plural	1332	Syntactic
gram8-plural-verbs	870	Syntactic

The obtained test set has 15646 questions and 13 sections (Table 1). Similar to the original, translated word analogy task is not balanced in terms of the number of questions per category and the sizes of semantic and syntactic parts. For example, country-capital relations (e.g. *Աթենք ~ Հունաստան = Կահիրե ~ Եգիպտոս*) comprise over 70% of semantic relations.

The accuracy of vectors on a question is determined as follows (WV_i denotes the word vector of i^{th} word in the question):

I. Calculate $p = WV_2 - WV_1 + WV_3$

II. Check $p \approx WV_4$ (this holds if p is closest to 4^{th} word's vector among all words)

If the equation in II holds, the model is said to predict the question correctly.

Results. To evaluate the accuracy of vectors, we used gensim's *evaluate_word_analogies* function[11]. While computing the accuracy, the vocabulary of models was restricted to 400000 words. Accuracy is calculated on each section (Table 2) and all examples, alongside we provide average accuracy over all sections (Table 3). Proposed fastText and GloVe embeddings correctly predicted highest number of syntactic and semantic examples respectively. However, GloVe's score is clearly inflated by its performance on country-capital examples.

On average, Facebook's Common Crawl vectors produced higher results in semantic sections and in total over all sections. As evidenced by the marked difference in accuracy between .bin and .text formats, the ability of .bin to generate vectors for out-of-vocabulary words greatly boosted its performance.

[11] github.com/RaRe-Technologies/gensim/blob/develop/gensim/models/keyedvectors.py

Table 2. Section-Wise Accuracy of Embeddings on Word Analogy Task.

Models	capital-common	capital-world	curr.	city-state	family	gram1	gram2	gram3	gram4	gram5	gram6	gram7	gram8
fastText[Wiki.text]	5.34%	0.78%	0%	0%	4.54%	14.91%	30.29%	39.57%	7.19%	44.21%	23.71%	29.35%	0.45%
fastText[Wiki.bin]	5.34%	0.77%	0%	0%	4.54%	16.53%	30.29%	27.98%	7.19%	47.52%	23.71%	29.35%	0.45%
fastText [CC .text]	32.61%	11.42%	2.77%	7.14%	13.83%	22.07%	30.66%	43.76%	4.45%	41.58%	18.33%	19.96%	5.51%
fastText [CC .bin]	72.53%	39.28%	11.55%	48.21%	47.83%	25.2%	36.21%	49.64%	19.7%	8.53%	23.08%	41.89%	41.03%
fastText[new .text]	27.66%	8.1%	0.1%	1.79%	16.2%	28.02%	41.74%	48.3%	23.95%	54.59%	50.51%	53.67%	6.09%
fastText[new .bin]	27.67%	8.1%	1.03%	1.79%	16.2%	30.14%	41.74%	58.82%	23.95%	54.59%	50.51%	53.67%	6.09%
SkipGram[YerevaNN]	39.32%	10.66%	2.07%	8.93%	5.73%	4.03%	0.61%	3.74%	1.23%	23.57%	0.12%	5.78%	0.8%
SkipGram [new]	36.17%	17.37%	2.3%	3.57%	17.79%	7.56%	12.43%	16.39%	1.7%	37.77%	4.93%	16.81%	10.34%
CBOW [new]	28.65%	13.04%	1.5%	5.36%	29.05%	10.48%	14.77%	17.91%	5.49%	24.26%	6.98%	28.6%	11.83%
GloVe [pioNER d50]	8.1%	1.06%	0.11%	0%	6.71%	3.32%	2.46%	3.29%	0.94%	11.75%	1.02%	6.98%	1.26%
GloVe [pioNER d100]	10.67%	1.67%	0.46%	3.57%	10.27%	4.53%	5.41%	4.72%	1.51%	16.51%	1.15%	7.43%	3.9%
GloVe [pioNER d200]	10.67%	2.28%	0.8%	7.14%	11.66%	3.52%	8.74%	7.13%	1.32%	15.69%	1.02%	5.7%	2.87%
GloVe [pioNER d300]	10.87%	2.05%	0.46%	5.36%	11.46%	3.22%	7.88%	5.79%	0.94%	13.75%	0.7%	4.72%	1.49%
GloVe [new]	75.3%	49.14%	2.19%	23.21%	15.8%	6.55%	11.2%	12.74%	2.27%	47.71%	1.85%	20.49%	5.4%

Table 3. Total and Section-Wise Average Accuracy of Embeddings on Word Analogy Task.

Model	**Semantic**	**Syntactic**	**Total**	**Semantic (avg.)**	**Syntactic (avg.)**	**Total (avg.)**
fastText [Wiki .text]	1.33%	24.88%	15.39%	2.13%	22.87%	14.89%
fastText [Wiki .bin]	1.33%	25.53%	15.78%	2.13%	23.71%	15.41%
fastText [CC .text]	12.08%	24.3%	19.38%	13.55%	23.29%	19.54%
fastText [CC .bin]	38.9%	35.96%	**37.14%**	**43.88%**	35.65%	**38.81%**
fastText [new .text]	9.29%	41.11%	28.29%	10.77%	38.35%	27.74%
fastText [new .bin]	9.3%	**42.48%**	29.11%	10.95%	**39.93%**	28.79%
SkipGram [YerevaNN]	11.37%	5.98%	8.15%	13.34%	4.98%	8.19%
SkipGram [new]	16.72%	14.69%	15.51%	15.44%	13.49%	14.24%
CBOW [new]	13.92%	15.66%	14.96%	15.52%	15.04%	15.22%
GloVe [pioNER dim50]	1.93%	4.36%	3.38%	3.19%	3.87%	3.61%
GloVe [pioNER dim100]	2.93%	6.13%	4.84%	5.33%	5.64%	5.52%
GloVe [pioNER dim200]	3.55%	6.07%	5.06%	6.51%	5.74%	6.04%
GloVe [pioNER dim300]	3.33%	5.11%	4.39%	6.04%	4.81%	5.28%
GloVe [new]	**41.88%**	15.35%	26.04%	33.12%	13.52%	21.06%

4. Extrinsic Evaluation

The second way of comparing the quality of vectors is to use them in downstream tasks. The comparison's outcome depends on the nature of these tasks and settings [5]. For that purpose, we performed experiments on 2 different tasks: morphological tagging and text classification.

4.1. Morphological Analysis. To check the quality of vectors in a morphological task, we trained and evaluated a neural network-based tagger on ArmTDP treebank, using word embeddings as input. The treebank's sentences are morphologically annotated, and the tagger's task was to predict the following 2 fields:

1. UPOS: universal part-of-speech tag.
2. FEATS: list of morphological features (number, case, animacy etc).

For the tagger, we used a neural network with 1 sentence-level bidirectional recurrent LSTM unit (Fig. 2). The pre-trained embeddings were used as input to the network. Apart from word embeddings, the network's input included character-based features extracted through a convolutional layer. The tagger was jointly trained to predict 2 tags for each input token: its UPOS and the concatenation of FEATS tags.

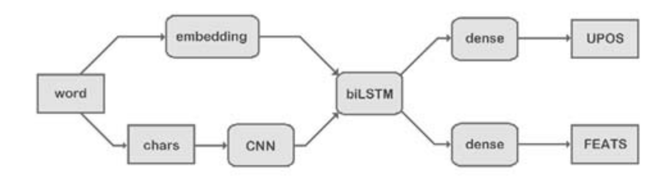


Figure 2. Morphological Tagger's Neural Network.

As of v2.3, ArmTDP provides only train and test sets. We randomly detached 20% of the original train set into a development set and used the other 80% to train the network for 200 epochs, saving parameters after each epoch. For optimization we used gradient descent with initial learning rate of 0.6 and time-based decay of 0.05. For testing, the model with highest

accuracy on the development set was used. The backpropagation of errors to the word embeddings was blocked during training.

Results. The experiments for all embeddings were carried out for 10 random seeds and then averaged. The results are reported in Table 4. Facebook's fastText models performed poorly in comparison to others. A striking observation is that in contrast to analogies, here fastText .text vectors outperformed .bin by a big margin, especially on FEATS. Overall, proposed models demonstrated highest accuracy. The best was fastText, followed by CBOW and GloVe.

Table 4. Taggers' Accuracy on ArmTDP v2.3 Test Set.

Model	Dev*		Test	
	UPOS	**FEATS**	**UPOS**	**FEATS**
fastText [Wiki .text]	92.99%	83.83%	89.54%	81.03%
fastText [Wiki .bin]	89.27%	75.96%	84.35%	71.14%
fastText [CC .text]	91.86%	79.85%	88.38%	75.44%
fastText [CC .bin]	91.54%	77.78%	87.59%	73.29%
fastText [new .text]	**94.64%**	85.89%	**93.35%**	83.99%
fastText [new .bin]	91.43%	80.1%	87.55%	74.78%
SkipGram	91.44%	80.04%	87.45%	75.68%
SkipGram [new]	93.9%	**86.45%**	91.6%	83.77%
CBOW [new]	93.87%	85.39%	92.72%	**84.07%**
GloVe [pioNER	91.78%	82.42%	89.12%	80.18%
GloVe [pioNER	91.78%	82.95%	89.06%	80.51%
GloVe [pioNER	92.34%	83.77%	88.90%	80.07%
GloVe [pioNER	91.70%	83.19%	89.09%	80.78%
Glove [new]	94.09%	86.23%	92.98%	83.97%

*Dev refers to the 20% of original train set that we used for validation

Table 5. News Texts Classification Scores (macro).

Model	Accuracy	Precision	Recall	F1
fastText [Wiki.text]	66.63	60.38	63.02	58.96
fastText [Wiki .bin]	65.79	59.78	63.97	58.15
fastText [CC .text]	65.75	59.15	63.68	57.03
fastText [CC .bin]	65.51	58.96	63.43	56.94
fastText [new .text]	63.34	56.97	59.81	55.18
fastText [new .bin]	60.12	53.66	55.4	51.96
SkipGram [YerevaNN]	64.34	57.87	59.73	56.28
SkipGram [new]	66.68	60.84	63.56	59.83
CBOW [new]	67.92	61.94	65.2	60.94
GloVe [pioNER dim50]	64.26	57.57	58.39	54.4
GloVe [pioNER dim100]	65.91	60.15	62.34	58.91
GloVe [pioNER dim200]	68.16	62.13	65.54	60.6
GloVe [pioNER dim300]	67.85	61.7	65.36	60.43
GloVe [new]	**69.77**	**63.93**	**66.55**	**63.13**

4.2. Text Classification. In order to check the quality of word vectors in a classification task, we collected 12428 articles from ilur.am news website[12] and categorized into 7 topics: art, economy, sport, accidents, politics, society and weather (2667299 tokens in total). The texts' 80% were used as train data and the other 20% as test data. All texts were preprocessed by removing stop words[13]. As features for the classifier the average of a text's word vectors was used with tf-idf weighting. Then, one-vs-rest logistic regression classifier with liblinear solver was applied.

[12] http://www.ilur.am/
[13] https://github.com/stopwords-iso/stopwords-hy

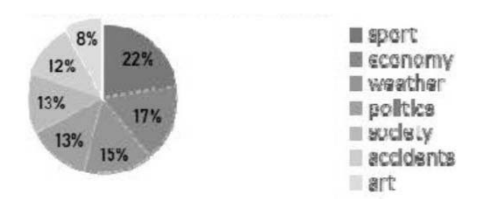


Figure 3. Categories in News Texts Dataset.

Results. The accuracy, precision, recall and F1 scores shown in Table 5, were computed for each model. Overall, proposed GloVe vectors achieved highest scores in all metrics, outperforming fastText, SkipGram, CBOW. Somewhat surprisingly, high-dimensional GloVe vectors from pioNER project, which performed poorly on analogies, are among the top performers here. It is also worthy to note that among fastText models, .bin vectors again produced worse scores than .text.

Conclusion

This work evaluates and compares publicly available word embeddings for the Armenian language on 3 different tasks. To that end, we present benchmark datasets for intrinsic and extrinsic evaluation of word embeddings. For intrinsic tests, the word analogy task is translated and adapted. For extrinsic evaluation, a neural network-based morphological tagger is employed, and a corpus of news texts is created for comparison of performance in a classification task. Alongside, new embeddings are released that outperform most of the existing models on these tasks.

Generally, fastText models produced better results in syntactic tasks, while GloVe models were better in tasks sensitive to semantic information. On analogy questions, Facebook's Common Crawl vectors were the winner by a big margin, but performed relatively poorly in morphological tagging and text classification tasks. In latter tasks, proposed CBOW, fastText, and GloVe models demonstrated noticeably higher accuracy. Overall, the results also illustrate that accuracy on analogy questions is not a good indicator of embeddings' performance on downstream tasks.

REFERENCES

1. *Bojanowski P., Grave E., Joulin A., Mikolov T.* Enriching Word Vectors with Subword Information. TACL. 2016.
2. *Grave E., Bojanowski P., Gupta P., Joulin A., Mikolov T.* Learning Word Vectors for 157 Languages. LREC. 2018.
3. *Ghukasyan T., Davtyan G., Avetisyan K., Andrianov I.* pioNER: Datasets and Baselines for Armenian Named Entity Recognition // IEEE The Proceedings of the 2018 Ivannikov ISPRAS Open Conference (ISPRAS-2018) 2018. PP. 56–61.
4. *Pennington J., Socher R., Christopher D.* Manning. GloVe: Global Vectors for Word Representation.. Empirical Methods in Natural Language Processing (EMNLP) 2014, PP. 1532–1543. 2014.
5. *Schnabel T., Labutov I., Mimno D. and Joachims T.* 2015. Evaluation methods for unsupervised word embeddings. In Proc. of EMNLP.
6. *Mikolov T., Chen K., Corrado G., & Dean J.* Efficient estimation of word representations in vector space. In Proceedings of International Conference on Learning Representations (ICLR). 2013.
7. *Svoboda, L. and Brychcin T.* (2016). New word analogy corpus for exploring embeddings of Czech words. In Proc. CICLING.
8. Köper M., Scheible C., and im Walde S. (2015). Multilingual reliability and “semantic” structure of continuous word spaces. Proc. IWCS 2015.
9. *Berardi G., Esuli A., and Marcheggiani D.* (2015). Word embeddings go to Italy: a comparison of models and training datasets. Italian Information Retrieval Workshop.
10. *Yavrumyan M., Khachatrian H., Danielyan A., Arakelyan G.* ArmTDP: Eastern Armenian Treebank and Dependency Parser. XI International Conference on Armenian Linguistics, Abstracts. Yerevan. 2017.
11. *Mikolov T., Sutskever I., Chen K., Corrado G., Dean J.* Distributed Representations of Words and Phrases and their Compositionality. 2013.

12. *Khurshudian V., Daniel M., Levonian D., Plungian V., Polyakov A., Rubakov S.* EASTERN ARMENIAN NATIONAL CORPUS. Dialog 2009. 2009.

ВЕКТОРНЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ СЛОВ ДЛЯ АРМЯНСКОГО ЯЗЫКА:ВНУТРЕННЯЯ И ВНЕШНЯЯ ОЦЕНКА КАЧЕСТВА

К. Аветисян, Ц. Гукасян

АННОТАЦИЯ

В работе выполняется внутренняя и внешняя оценка качества существующих векторных моделей слов армянского языка. Вдобавок представляются новые модели векторов, обученные с помощью методов GloVe, fastText, CBOW, SkipGram. Для внутренней оценки адаптируется и применяется тест аналогий. Для внешней оценки модели векторов тестируются в задачах морфологической разметки и классификации текстов. Разметка выполняется с помощью искусственной нейронной сети, используя для обучения банк деревьев ArmTDP. Для классификации текстов мы создаем корпус новостных статей, разбитых на 7 классов. Мы делаем наборы тестовых данных общедоступными для использования в дальнейших исследованиях.

Ключевые слова: векторы слов, тест аналогий, морфологическая разметка, классификация текстов.

БИОЛОГИЯ

УДК 533.9.082.5

Поступила: 17.12.2018г.
Сдана на рецензию: 18.12.2018г.
Подписано к печати: 24.12.2018г.

СИНТЕЗ ЗЕЛЕНЫХ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДОВ ЖЕЛЕЗА И ИССЛЕДОВАНИЕ ИХ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ*

Л.М. Фарсиян, А.А. Оганесян

Российско-Армянский университет
ИМБиФ, кафедра медицинской биохимии и биотехнологии

lilitffarsiyan@gmail.com

АННОТАЦИЯ

Токсичность наночастиц (НЧ), синтезированных химическими и физическими методами, является одной из основных проблем для их применения. Зелёные НЧ, синтезированные с использованием растительных экстрактов, являются менее токсичными в сравнении с другими методами их конгрегации. В данной работе была изучена токсичность нами синтезированных зеленых НЧ оксидов железа (RBC тест) и исследована антибактериальная активность на выживаемость бакте-

* *Работа выполнена при финансовой поддержке РАУ за счет средств субсидий Министерства образования и науки РФ.*

рий. Результаты показали, что полученные НЧ в данных концентрациях не являются токсичными по отношению к эритроцитам и бактериям Гр(+) *S.aureus* и Гр(-) *E.coli K-12*, следовательно, могут иметь прикладное значение для дальнейших *in vivo* исследований.

Ключевые слова: нанобиотехнология, наночастицы, RBC тест, S.aureus, E.coli K-12.

Для изучения действия полученных нами зеленых НЧ оксидов железа на рост бактерий мы провели исследование на 2 различных штаммах: грамотрицательных бактерий *E. coli K-12* и грамположительных *S. aureus.*

Как показали наши результаты, в *in vitro* условиях синтезированные нами НЧ оксидов железа не обладают выраженной цитотоксичностью по отношению к исследуемым штаммам *E. coli K-12* и *S. aureus* несмотря на то, что положительный контроль – соль Fe^{2+}, приводит к довольно большой зоне лизиса (Рис. 1; 2).

Антибактериальную активность проявили только НЧ на основе 96% экстракта *H. perforatum* по отношению к *S. aureus*, при этом зона полного ингибирования равна 24 мм (учитывая кор агара 9 мм) (Рис.2). *Такая* антибактериальная активность против грамположительных бактерий обусловлена наличием высокого содержание гиперицина в составе *H. perforatum* (5.7 мкг/г сухого веса). Ингибирующая концентрация для НЧ составила 0,53 мг/мл. Поскольку такую же активность проявили 96% и 50% контрольные экстракты *H. perforatum*, то подобная антибактериальная активность объясняется наличием в составе *H. perforatum* мажорного спирторастворимого компонента – гиперицина, который проявляет антибактериальную активность по отношению к *S.aureus*, что подтверждается также данными литературы [12; 10].

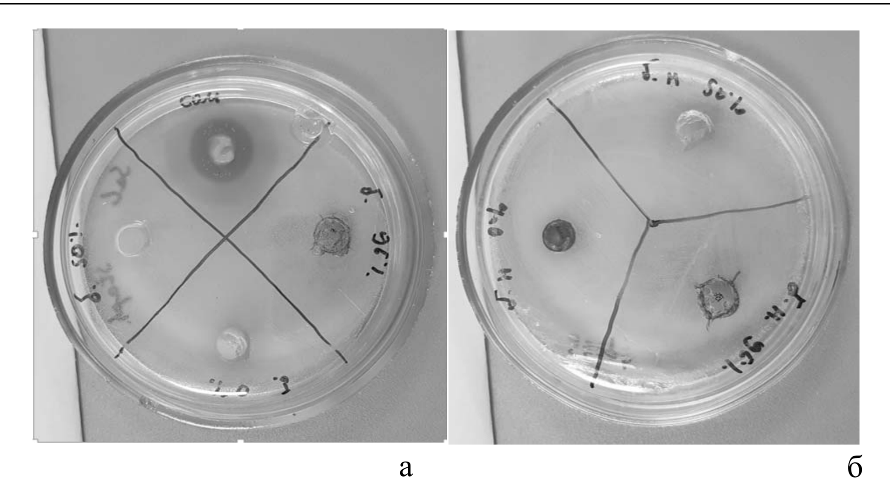
Токсичность экстрактов и НЧ также исследовалась на эритроцитах, в результате чего было определено, что НЧ оксидов железа, также, как и исследуемые экстракты, не обладали гемолитическими

свойствами. Через 24 ч в условиях темновой инкубации водные экстракты *H.perforatum* L. и *O.basilicum* L. практически не проявляли гемолитической активности и резистентность эритроцитов составляла 93% и 100% соответственно (Рис. 3).

В условиях темновой инкубации НЧ на основе водных экстрактов *O.basilicum* L. через 24 ч инкубации НЧ на основе водных экстрактов также не привели к гемолизу и резистентность эритроцитов составляла 100%, а НЧ на основе водного экстракта *H.perforatum* L. практически не привели к гемолизу и резистентность эритроцитов составляла 90% (Рис. 4).

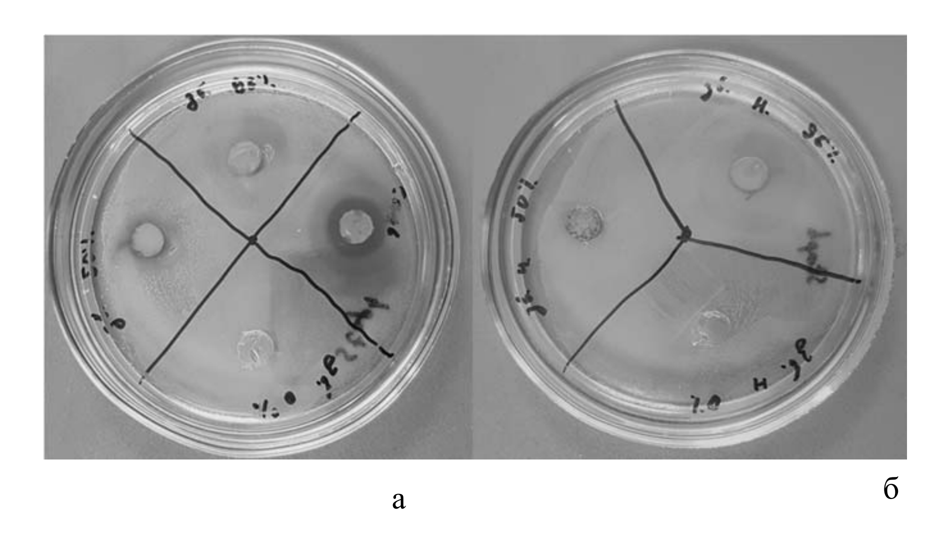
Заключение

Таким образом, из полученных результатов можно сделать следующие выводы: синтезированные НЧ не обладают бактерицидным действием по отношению к штаммам *E.coli K-12*, синтезированные НЧ не обладают бактерицидным действием по отношению к штаммам *S.aureus*, кроме НЧ, синтезированных на основе 96% экстракта *H.perforatum*, что наверняка связано с содержанием гиперицина (5.7 мкг/г сухого веса), водные экстракты *H.perforatum* L. и *O.basilicum* L. и полученные нами НЧ оксидов железа на их основе, практически не обладают гемолитической активностью, нецитотоксичные «зеленые» НЧ могут иметь широкий спектр прикладных применений.



а б

Рис. 1. Действие 50%, 70%, 96% этанольных экстрактов базилика (высуш.) и 0.1 M Fe^{2+} (а); НЧ оксида железа на основе разных экстрактов базилика (б), на рост бактерий E.coli K-12.



а б

Рис.2. Действие 50%, 70%, 96% этанольных экстрактов зверобоя и 0.1 M Fe^{2+} (а); НЧ оксида железа на основе разных этанольных экстрактов H.perforatum L., на рост бактерий S. aureus.

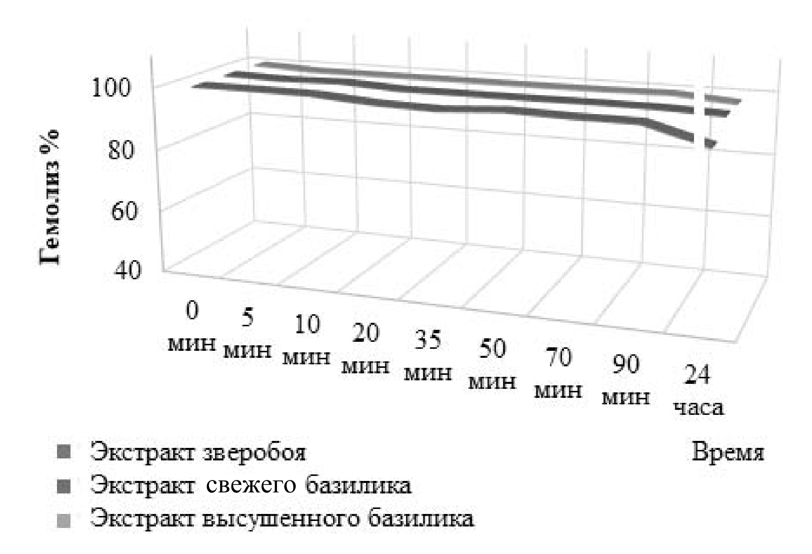


Рис. 3. Гемолитическое действие разных экстрактов H.perforatum L. и O.basilicum L. на эритроциты

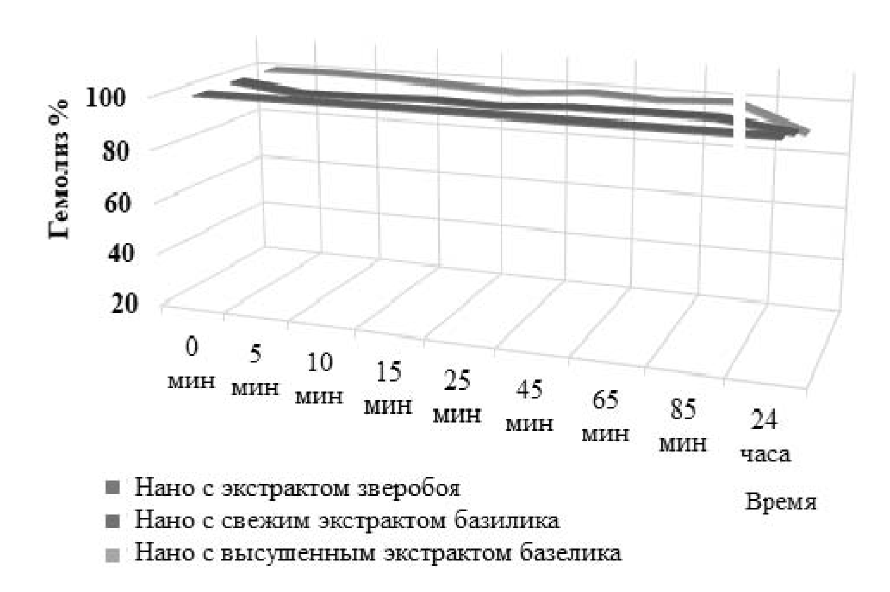


Рис.4. Гемолитическое действие НЧ на основе разных экстрактов H.perforatum L. и O.basilicum L. на эритроциты.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Altun M.L., Yılmaz B.S., Orhan I.E., Citoglua G.S.* Assessment of cholinesterase and tyrosinase inhibitory and antioxidant effects of *Hypericum perforatum* L. (St. John's wort). Journal Industrial Crops and Products, V2013, 43, 87–92.
2. *Crockett S.L., Robson N.K.* Taxonomy and chemotaxonomy of the genus *Hypericum.* Med Aromat Plant Sci Biotechnol., 2003, 5(Special Issue 1), 1–13.
3. *Ghosh S., Patil S., Ahire M., Kitture R., Kale S., Pardesi K., Cameotra S.S., Bellare J., Dhavale D.D., Jabgunde A., Chopade B.A.* Synthesis of silver nanoparticles using *Dioscorea bulbifera* tuber extract and evaluation of its synergistic potential in combination with antimicrobial agents. Int J Nanomedicine. 2012, 7, 483–96. doi: 10.2147/IJN.S24793.
4. *Jungmin Lee, Scagel C.F.* Chicoric acid levels in commercial basil (*Ocimum basilicum*) and *Echinacea purpurea* products. Journal of Functional Foods 20102:77–84 DOI: 10.1016/j.jff.2009.11.004
5. *Kumar A.M., Chisti Y., Banerjee U.C.* Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. Journal Biotechnology Advances, 2013, 31(2), 346–356.
6. *Kumar A., Kumar-Vemula P., Ajayan P.M., John G.* Silver-nanoparticle embedded antimicrobial paints based on vegetable oil. Nat Mater. 2008, 7, 236–241. http://dx.doi.org/10.1038/nmat2099.
7. *Lee J., Scagel C.F.* Chicoric acid levels in commercial basil (*Ocimum basilicum*) and Echinacea purpurea products. Journal of Functional Foods, 2010, 2(1), 77–84.
8. *Malabadi R.B., Naik S.L., Meti N.T., Mulgund G.S., Nataraja K., Kumar S.V.* Silver nanoparticles synthesized by in vitro derived plants and callus cultures of Clitoria ternatea; Evaluation of antimicrobial activity // Research in Biotechnology, 2012, 3(5), 26–38.

9. *Orhan I.E., Kartal M., Gülpinar A.R., Cos P., Matheeussen A., Maes L., Tasdemir D.* Assessment of antimicrobial and antiprotozoal activity of the olive oil macerate samples of *Hypericum perforatum* and their LC-DAD-MS analyses. Food Chem. 2013, 1, 138(2-3):870-5. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.11.053.
10. *Saddiqe Z., Naeem I., Maimoona A.* A review of the antibacterial activity of *Hypericum perforatum* L. Journal of Ethnopharmacology, 2010, 131(3), 511–521.
11. *Vardapetyan H., Hovhannisyan A.A., Tiratsuyan S.* Study of photodynamic activity of hypericin and synthetic photosensitizers on haemolysis of erythrocytes *in vitro*. Proceedings of SPIE – The International Society for Optical Engineering, Article number 608706 Biophotonics and Immune Responses; San Jose, CA; United States. 2006, 6087.
12. *Vardapetyan H.R., Martirosyan A.S., Tiratsuyan S.G., Hovhannisyan A.A.* Interaction between hypericin and hemoglobin. J. Photochem. Photobiol. B: Biol. 101 (2010). PP. 53– 58, PMID: 20634087.
13. *Wu W., He Q., Jiang C.* Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis and surface functionalization strategies // Nanoscale Research Letters, 2008, 3(11), 397 – 415.
14. *Zhuang X., Deng Z.B., Mu J., Zhang L., Yan J., Miller D., Feng W., McClain C.J., Zhang H.G.* Ginger-derived nanoparticles protect against alcohol-induced liver damage. J Extracell Vesicles. 2015, 4:28713. doi: 10.3402/jev.v4.28713.

SYNTHESIS OF GREEN NANOPARTICLES OF IRON OXIDES AND THE STUDY OF THEIR CYTOTOXICITY

L. Farsiyan, A. Hovhannisyan

ABSTRACT

Nanoparticles (NPs) are submicron – nanoscale fragments from inorganic or organic materials, which have a variety of unique properties compared with bulk materials. The toxicity of NPs synthesized by chemical and physical methods is one of the main problems for their application. Green NPs synthesized by using plant extracts are less toxic in comparison with other methods of their congregation. In this series of experiments, we synthesized iron oxide NPs, studied their toxicity for erythrocyte resistance (RBC test), and investigated the antibacterial activity on the survival of Gr(+) *S.aureus* and Gr(-) *E.coli* K-12 bacteria. The results of the experiment showed that the obtained green NPs are not toxic, and, therefore, can be used for further *in vivo* studies.

Keywords: nanobiotechnology, nanoparticles, RBC test, *S.aureus, E.coli K-12*.

УДК 679.6

Поступила: 20.12.2018г.
Сдана на рецензию: 24.12.2018г.
Подписано к печати: 16.01.2019г.

АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЙ ЭФФЕКТ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА НА АНТИБИОТИКОУСТОЙЧИВЫЙ ШТАММ *ESCHERICHIA COLI*[*]

А.А. Арутюнян, М.И. Тимотина, Л.С. Габриелян, Л.Р. Рштуни, А.А. Трчунян

Российско-Армянский Университет,
Институт биомедицины и фармации, кафедра медицинской биохимии и биотехнологии

anih9818@gmail.com; Timotina.mar@gmail.com; Lsgabrielyan@gmail.com;Lilit.rshtuni@rau.am; Trchounian@ysu.am

АННОТАЦИЯ

Антибиотикоустойчивые бактерии – новые патогенные микроорганизмы, чья резистентность к антибиотикам является серьезной проблемой для сдерживания их распространения и воздействия на человека. В настоящее время большое внимание уделяется поиску альтернативных методов борьбы с подобными микроорганизмами. Одним из таких методов является использование наночастиц, которые ввиду небольших размеров способны проникать через бактериальные мембраны. В данной работе было исследовано действие наночастиц оксида железа

[*] *Работа выполнена в рамках предоставленного МОН РФ финансирования научно-исследовательской деятельности РАУ.*

Fe_3O_4 (в концентрации 50–250 мкг/мл) на удельную скорость и продолжительность лаг-фазы роста, pH и окислительно-восстановительный потенциал среды, а также на выделение водорода (H_2) ампициллин-резистентным штаммом *Escherichia coli* DH5α-pUC18. Ампициллин – широко известный β-лактамный антибиотик, подавляющий синтез бактериальной клеточной стенки. Обнаружено ингибирующее действие наночастиц Fe_3O_4 на ампициллин-резистентный штамм *E. coli*, выражающееся в снижении удельной скорости роста и уменьшении количества бактериальных колоний, выросших на твердой питательной среде, а также в увеличении продолжительности лаг-фазы роста. Наночастицы Fe_3O_4 также подавляли мембраносвязанное выделение H_2 *E. coli*, что может быть связано с активностью гидрогеназы и формиат-водородлиазных комплексов *E. coli.* Таким образом, наночастицы Fe_3O_4 проявляют антибактериальную активность в отношении ампициллин-резистентной бактерии, и могут рассматриваться как антибактериальные агенты, что в будущем позволит им заменить антибиотики в биомедицине при лечении различных инфекционных заболеваний.

Ключевые слова: наночастицы оксида железа; антибиотикоустойчивые бактерии; рост бактерий; выделение водорода.

Введение

Широкое и зачастую неконтролируемое использование антибиотиков привело к появлению антибиотикоустойчивых микроорганизмов – одной из основных проблем биомедицины XXI века. В настоящее время большое внимание уделяется поиску альтернативных методов борьбы с подобными микроорганизмами. Одним из таких методов является использование наночастиц (НЧ), которые ввиду небольших размеров способны проникать через бактериальные мембраны. Показано, что НЧ некоторых тяжелых металлов проявляют антибактериальную активность против антибиотикоустойчивых бактерий [1, 2].

Одними из наиболее многообещающих НЧ для применения в биомедицине и биотехнологии являются наночастицы оксида железа

Fe_3O_4 [2, 3]. Ввиду высокой биосовместимости НЧ Fe_3O_4 могут использоваться в системе доставки различных лекарственных препаратов при лечении разных видов рака [3, 4]. Кроме того, показано ингибирующее действие НЧ Fe_3O_4 на формирование биофильмов патогенными микроорганизмами [5]. Предполагается, что антибактериальное действие НЧ металлов является результатом их взаимодействия с бактериальной мембраной и проникновения в клетку, приводящим к повреждению мембраны и гибели бактерий [2, 6]. Механизмы, лежащие в основе антибактериальных эффектов НЧ, не исследованы полностью, и различаются в зависимости от вида НЧ и бактерии. Влияние НЧ на бактерии зависит от многих факторов: структуры наночастиц, их формы, способа получения, вида стабилизатора и др. свойств [3, 6].

В данной работе исследовано действие НЧ оксида железа Fe_3O_4 на параметры роста (удельную скорость и продолжительность лаг-фазы роста, pH и окислительно-восстановительный потенциал среды), а также на мембраносвязанное выделение водорода (H_2) ампициллинрезистентным штаммом *Escherichia coli* DH5α-pUC18.

Методы

Бактерии и их рост. Исследования проводились на ампициллинрезистентном штамме *E. Coli* DH5α-pUC18. Бактерия выращивалась в присутствии и отсутствии антибиотика – ампициллина (100 мкг/мл) в анаэробных условиях на пептонной среде (2 % пептона, 0.5 % NaCl, 0.2 % K_2HPO_4 и 0.2 % глюкозы) при 37 °C и pH 7.5 [7]. НЧ Fe_3O_4 в концентрации от 50 до 250 мкг/мл добавляли непосредственно в ростовую среду. Рост бактерий контролировали путем измерения оптической плотности (ОП) суспензии на спектрофотометре SP-2000 UV Visible (Ningbo Hinotek Instrument, China) при длине волны 600 нм ($ОП_{600}$). Удельную скорость роста (μ) определяли как частное от деления 0.693 (ln2) на время удвоения ОП в интервале, когда изменение ОП во времени носило линейный характер, и выражали в $ч^{-1}$ [7, 8].

Продолжительность лаг-фазы роста определяли графически, как время до начала логарифмической фазы роста. Подсчет жизнеспособных бактерий проводили методом посева соответственно разведенной в определенном объеме бактериальной культуры на твердую питательную среду в чашки Петри, а затем подсчитывали количество сформированных колоний.

Определение pH, окислительно-восстановительного потенциала среды, внутриклеточного pH и выделения H_2. pH среды измеряли в процессе бактериального роста с помощью pH-метра (HANNA Instruments, Portugal) [8]. Начальное значение pH поддерживалось в пределах 7.5±0.1 с помощью 0.1 M NaOH или 0.1 M HCl. Окислительно-восстановительный потенциал (ОВП) определяли с использованием пары электродов (платинового и титан-силикатного) [7, 8]. Выход H_2 рассчитывали по изменению величины ОВП и выражали в ммоль H_2/л [7, 8]. Значение внутриклеточного pH определяли по тушению флуоресценции 9-аминоакридина (9-AA), как описано ранее [9]. Измерения проводились на спектрофлуориметре Spectro-96 (MRC, Israel) при длине волны 460 нм [9].

Результаты и обсуждение

Было исследовано влияние НЧ Fe_3O_4 на параметры роста антибиотикоустойчивого штамма *E. coli.* Кишечная палочка – широко известная грамотрицательная бактерия, характеризующаяся высокой скоростью роста и более или менее исследованным метаболизмом [7, 8, 10]. Среди *E. coli* также встречаются патогенные формы, вызывающие различные заболевания мочеполовой и центральной нервной систем [11].

При добавлении 50 мкг/мл НЧ скорость роста бактерий почти не менялась ни в присутствии, ни в отсутствии ампициллина (Рис. 1A). Ампициллин – широко известный β-лактамный антибиотик, подавля-

ющий синтез бактериальной клеточной стенки [12]. Обнаружено ингибирующее действие НЧ Fe_3O_4 (в концентрации 100–250 мкг/мл) на ампициллин-резистентный штамм *E. Coli* DH5α-pUC18. Как видно из Рис.1А, максимальный ингибирующий эффект НЧ наблюдается при концентрации 250 мкг/мл: удельная скорость роста *E. coli* подавлялась примерно в 2 раза, указывая на бактерицидное действие НЧ. В присутствии ампициллина эффективность НЧ снижалась: удельная скорость роста бактерии подавлялась в 1.4 раза (Рис. 1А).

Длительность латентной (лаг) фазы роста значительно возрастала в присутствии НЧ Fe_3O_4, что также имело концентрационную зависимость (Рис. 1Б).

При добавлении 100 мкг/мл НЧ Fe_3O_4 количество жизнеспособных колоний ампициллин-резистентной *E. coli* при росте в отсутствии и присутствии антибиотика снижалось в 5–7 раз, соответственно (Рис. 2).

Предполагается, что причиной антибактериальной активности НЧ являются активные формы кислорода (супероксидный (O^{2-}) и гидроксидный радикалы (OH^-), синглетный кислород ($_1O^2$)), образуемые НЧ Fe_3O_4 [2, 6].

Рост бактерий в анаэробных условиях сопровождается падением ОВП от положительных до резко отрицательных значений [7, 8]. Для выявления механизмов действия НЧ Fe_3O_4 на антибиотикоустойчивый штамм *E. coli* была исследована кинетика ОВП в процессе бактериального роста. Показано, что рост данного штамма (без НЧ и антибиотиков) в анаэробных условиях в течение 24 часов сопровождается снижением значения ОВП от положительной величины (+120±10 мВ) в начале лаг-фазы роста до –485±10 мВ (Табл. 1). Падение ОВП указывает на повышение интенсивности восстановительных процессов, что является типичным для метаболических процессов во время роста бактерий в анаэробных условиях и мембраносвязанного выделения H_2[7, 8]. Добавление НЧ приводит к замедлению падения ОВП. Так, в присутствии 100 мкг/мл Fe_3O_4 значение ОВП снижалось до –427±5 мВ.

При росте бактерии в присутствии ампициллина величина ОВП достигала –465±10 мВ. При добавлении НЧ Fe_3O_4 ОВП ампициллин-резистентной бактерии понижался до –405±5 мВ (Табл. 1).

Взаимосвязь между снижением величины ОВП и выделением H_2 была показана для разных бактерий в нашей лаборатории [7–9]. Известно, что выделение H_2 *E. coli* связано с активностью мембраносвязаных формиат-водород-лиазных комплексов, расщепляющих формиат на H_2 и CO_2 [7]. НЧ Fe_3O_4 не оказывали существенного воздействия на выход H_2 *E. coli*, выращенной в отсутствии антибиотика: выделение H_2 подавлялось примерно в 1.2 раза по сравнению с контрольным образцом (Табл. 1). Однако при действии НЧ и ампициллина наблюдался синергический эффект: их комбинированное применение вызывало подавление выхода H_2 примерно в 2 раза по сравнению с бактерией, выращенной в присутствии одного антибиотика (Табл. 1).

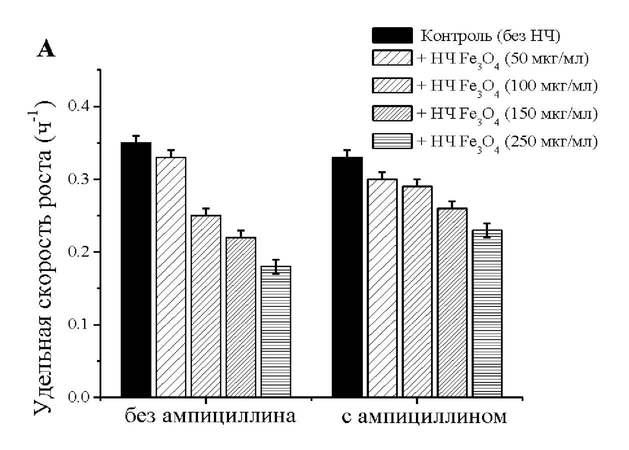
Определяли также значение внутриклеточного pH бактерий по тушению флуоресценции 9-АА [9]. Распределение 9-АА между вне- и внутриклеточным пространствами бактериальной клетки приводит к созданию градиента pH. Тушение флуоресценции в присутствии бактерий наблюдается, когда внеклеточный pH выше, чем внутриклеточный pH. Значение внутриклеточного pH ампициллин-резистентного штамма *E. coli* DH5α-pUC18 составляло 7.50±0.05. Значение pH данного штамма не изменялось при добавлении НЧ.

Заключение

Наночастицы Fe_3O_4 демонстрируют антибактериальную активность в отношении ампициллин-резистентного штамма *E. coli*, подавляя удельную скорость роста и выделение H_2, а также увеличивая продолжительность лаг-фазы роста, что свидетельствует о том, что данные НЧ воздействуют на бактериальную мембрану путем изменения

ее структуры и проницаемости. Кроме того, обнаружено синергическое взаимодействие между наночастицами и антибиотиком: их комбинирование приводит к подавлению выхода H_2 в *E. coli*.

Таким образом, НЧ оксида железа могут рассматриваться как антибактериальные агенты, что в будущем позволит им заменить антибиотики в биомедицине при лечении различных инфекционных заболеваний.



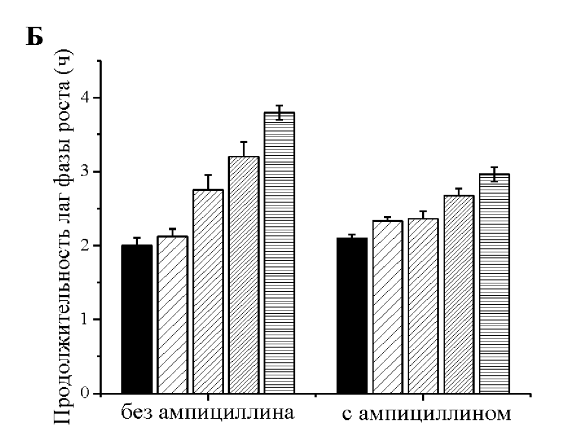


Рис. 1. Влияние различных концентраций НЧ Fe_3O_4 на удельную скорость (А) и продолжительность лаг фазы (Б) роста ампициллин-резистентного штамма E. coli DH5α-pUC18.

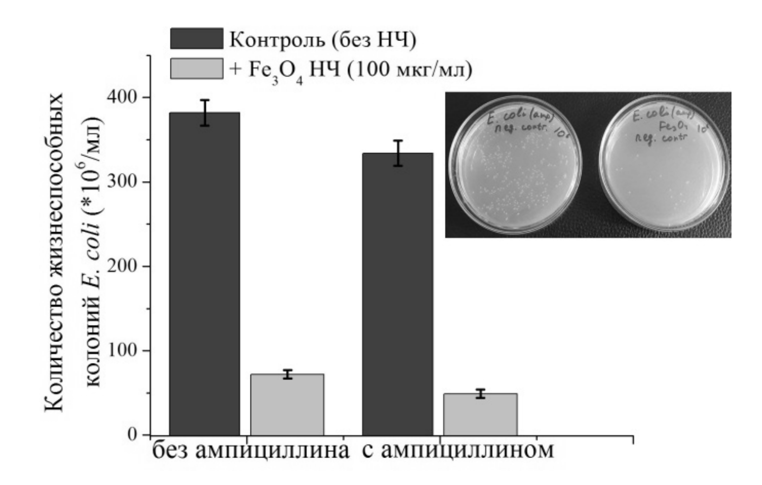


Рис. 2. Количество жизнеспособных колоний ампициллин-резистентного штамма E. coli DH5α-pUC18 при росте в отсутствии и присутствии 100 мкг/мл НЧ Fe_3O_4.

Таблица 1.

Влияние НЧ Fe_3O_4 на изменение ОВП среды и выделение H_2 ампициллин-резистентным штаммом E. coli DH5α-pUC18 в процессе анаэробного роста.

	Выход H_2 (ммоль/л)	ОВП (мВ)
E. coli (без ампициллина)	1.41± 0.05	–485±10
E. coli (без ампициллина) + НЧ Fe_3O_4	1.20 ± 0.05	–427±5
E. coli (с ампициллином)	1.35 ± 0.05	–465±10
E. coli (с ампициллином) + НЧ Fe_3O_4	0.74±0.03	–405±5

ЛИТЕРАТУРА

1. *Singh R., Smitha M.S., Singh S.P.* The role of nanotechnology in combating multi-drug resistant bacteria // J. Nanosci. Nanotechnol. V. 14, 2014, PP. 1–12.
2. *Trchounian A., Gabrielyan L., Mnatsakanyan N.*Nanoparticles of various transition metals and their applications as antimicrobial agents. In: Saylor Y, IrbyV, editors. Metal Nanoparticles: Properties, Synthesis and Applications, Hauppauge NY, USA: Nova Science Publ.; 2018, PP. 161-211.
3. *Assa F., Jafarizadeh-Malmiri H., Ajamein H., Anarjan N. et al.*A biotechnological perspective on the application of iron oxide nanoparticles // Nano Res. V. 9, 2016, PP. 2203–2225.
4. *Mody V.V., Cox A., Shah S., Singh A., Bevins W., Parihar H*. Magnetic nanoparticle drug delivery systems for targeting tumor // Appl. Nanosci., V. 4, 2014, PP. 385–392.
5. *Sathyanarayanan M.B., Balachandranath R., Srinivasulu Y.G., Kannaiyan S.K., Subbiahdoss G.* The effect of gold and iron-oxide nanoparticles on biofilm-forming pathogens // Int. Res. Scholar Notices Microbiol., 2013, http://dx.doi.org/10.1155/2013/272086.
6. *Wang L., Hu Ch., Shao L.* The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future // Int. J. Nanomedicine, V. 12, 2017, PP. 1227–1249.
7. *Poladyan A., Avagyan A., Vassilian A., Trchounian A.* Oxidative and reductive routes of glycerol and glucose fermentation by *Escherichia coli* batch cultures and their regulation by oxidizing and reducing reagents at different pH // Curr.Microbiol., V. 66, 2013, PP. 49–55.
8. Sarg*syan H., Trchounian K., Gabrielyan L., Trchounian A.*Novel approach of ethanol waste utilization: biohydrogen production by mixed cultures of dark- and photo-fermentative bacteria using

distiller's grains // Int. J. Hydrogen Energy, V. 41, 2016, PP. 2377–2382.

9. *Hakobyan L., Gabrielyan L., Trchounian A.* Relationship of proton motive force and the F_oF_1-ATPase with bio-hydrogen production activity of *Rhodobactersphaeroides*: Effects of diphenyleneiodonium, hydrogenase inhibitor, and its solvent dimethylsulphoxide // J. Bioenerg. Biomembr., V. 44, 2012, PP. 495–502.
10. *Vardanyan Z., Gevorkyan V., Ananyan M., Vardapetyan H., Trchounian A.*Effects of various heavy metal nanoparticles on *Enterococcus hirae* and *Escherichia coli* growth and proton-coupled membrane transport // J.Nanobiotechnol., V. 13, 2015, P. 69.
11. *Clements A., Young J.C., Constantinou N., Frankel G.* Infection strategies of enteric pathogenic *Escherichia coli* // Gut Microbes, V. 3, 2012, PP. 71–87.
12. *Guliy O., Ignatov O.V., Markina L.N., Bunin V.D., Ignatov V.V.* Action of ampicillin and kanamicin on the electrophysical characteristics of *Escherichia coli* cells // Intern. J. Environ. Anal. Chem., V. 85, 2005, PP. 981–992.

ANTIBACTERIAL EFFECT OF IRON OXIDE NANOPARTICLES ON ANTIBIOTIC-RESISTANT *ESCHERICHIA COLI* STRAIN

A. Harutyunyan, M. Timotina, L. Gabrielyan, L. Rshtuni, A. Trchounian

Antibiotic-resistant bacteria are novel pathogens the resistance of which presents a problem for containing their spread and their effect on humans. Nowadays the finding of alternative approaches for overcoming antibiotic-resistance of bacteria attracts great attention. One such approach is the use of nanoparticles that can penetrate through bacterial membranes due to their small size. In the present work the effects of iron oxide (Fe_3O_4) nanoparticles (in

concentration 50–250 μg/mL) on the specific growth rate and lag phase duration, medium pH and redox potential, and hydrogen (H_2) production by ampicillin-resistant *Escherichia coli* DH5α-pUC18 strain have been investigated. Ampicillin is a known β-lactam antibiotic, which inhibits the synthesis of bacterial cell wall. Fe_3O_4 nanoparticles showed inhibitory effect on ampicillin-resistant *E. coli* strain. Bacterial growth specific rate and colony forming units were decreased indicating the nanoparticles' antibacterial effect. Moreover, the lag phase duration was increased in the presence of nanoparticles. Membrane-associated H_2 production by *E. coli* was also lowered, which can be coupled with activity of hydrogenases and formate hydrogen lyasecomplexes. Thus, Fe_3O_4 nanoparticles show antibacterial activity against ampicillin-resistant bacteria, and these nanoparticles can be used as antibacterial agents, which can substitute antibiotics for the treatment of bacterial diseases in biomedicine.

Keywords: iron oxide nanoparticles, antibiotic-resistant bacteria, bacterial growth, hydrogen production.

Вестник РАУ № 1, 2019, 92-97

Поступила: 20.12.2018г.
Сдана на рецензию: 21.12.2018г.
Подписано к печати: 14.01.2019г.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СРЕДНЕГО РАЗМЕРА ВЕЗИКУЛ НИОСОМ КАК ФУНКЦИИ ТЕМПЕРАТУРЫ

К.С. Эльбекьян[1], Е.И. Дискаева[2], О.В. Вечер[2]

Ставропольский государственный медицинский университет,
[1]кафедра общей и биологической химии,
[2]кафедра физики и математики

karinasgma@inbox.ru

АННОТАЦИЯ

В данной работе проведено исследование влияния нагрева ниосомальной дисперсии на основе Span 60 на размеры частиц. Показано, что при увеличении температуры наблюдается уменьшение среднего диаметра везикул ниосом в среднем на 25%.

Ключевые слова: ниосомальная дисперсия, Span 60, везикулы.

Введение

В течение последних десятков лет в области усовершенствования фармацевтических свойств лекарственных препаратов произошли серьезные изменения [1–5]. Разработаны принципиально новые подходы, позволяющие менять свойства лекарственных препаратов: делать их более эффективными, придавать им адресность, снижать побочные эффекты. Для этого применяют нано- и микроразмерные носители, такие как липосомы, ниосомы, дендримеры и др. Наибольшее

распространение в настоящее время получили липосомы (микро- и наноразмерные коллоидные сферы, которые состоят из липидного слоя, окружающего активное лекарственное средство) и как альтернатива им – ниосомы (искусственные одно- или многокамерные везикулы, образованные двуслойными мембранными структурами, состоящими из неионогенных сурфактантов). Однако ниосомы обладают рядом преимуществ по сравнению липосомами, что связано с рядом причин [6]. Во-первых, в отличие от липосом, ниосомы не подвержены окислению. Во-вторых, для них нет необходимости в создании специальных методов очистки и хранения. И, в-третьих, ниосомы характеризуются высоким соотношением цена-эффективность.

Материалы и методы

В качестве образцов для исследования мы использовали водную ниосомальную дисперсию, состоящую из сорбитанмоностеарата (Span 60), холестерина, полиэтиленгликоля PEG-4000 и дицетилфосфата в молярном соотношении 35:27:1:5. Определение размеров частиц дисперсной фазы проводились методом сканирующей электронной микроскопии (TescanMira 3 Im). Для обработки полученных микрофотографий использовали программу ImageJ [7]. Математические расчеты проводились с применением пакета MSExcel.

Для определения влияния нагрева на размер и форму ниосомальных частиц, исследуемые образцы нагревали на водяной бане (Unilab) в интервале от 25 ^{0}C до 50 ^{0}C. На рис. 1 представлены микрофотографии исследуемых образцов, из которых видно, что частицы дисперсной фазы – полидисперсная среда. Для корректного описания такой дисперсной системы необходима информация о распределении числа части по размерам. Характеристика дисперсного состава выполнена с помощью функции распределения числа частиц по размерам $f(\delta)$.

Для определения эквивалентного диаметра частиц находили средний проектированный диаметр: $\delta_{П} = \sqrt{\frac{4S_{П}}{\pi}}$. Для получения информации о размере частиц для каждого значения температуры, исследовали различные фракции с общим числом 350, далее строили гистограммы (рис. 2), дающие представление о степени полидисперсности анализируемых систем.

Результаты и обсуждение

Проведенный анализ показывает, что при изменении температуры в интервале (25–50^{0}С), в изучаемых дисперсных системах, наблюдается уменьшение среднего диаметра частиц в среднем на 25%. Причина этого, возможно, состоит в том, что размеры везикул контролируются термодинамическими факторами.

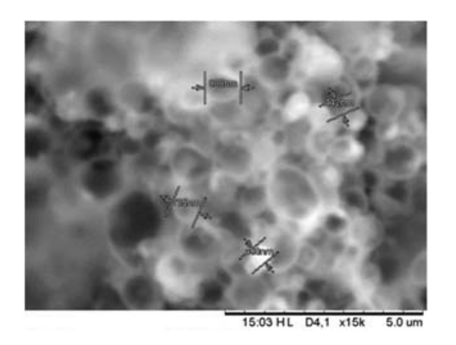
Необходимо отметить, что ниосомы малых размеров термодинамически неустойчивы, поэтому их содержание можно обнаружить только спустя короткое время после приготовления суспензии, при условии небольшой ее концентрации. Расстояние между ниосомами в агрегатах настолько мало, что между ними возникает сильное межвезикулярное взаимодействие. Это сопровождается искривлением соприкасающихся поверхностей и в дальнейшем ведет к образованию более выгодных энергетически крупных ниосом, т.е. происходит их слияние. При повышении температуры слияние ниосом в агрегатах замедляется под влиянием сил отталкивания структурированности воды в пространстве между ними и увеличением броуновского движения.

Представленные результаты позволяют судить о чувствительности размеров частиц нисомальной дисперсии на основе сорбитанмоностеарата (Span 60), к изменениям температуры.

Заключение

Ниосомальные микроконтейнеры являются перспективной современной технологией инкапсулирования и введения различных фар-

макологических препаратов. В связи с этим особую значимость приобретает изучение физико-химических свойств этих систем.



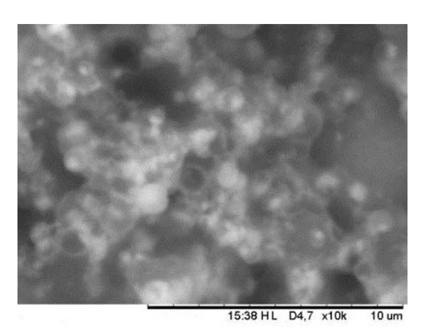
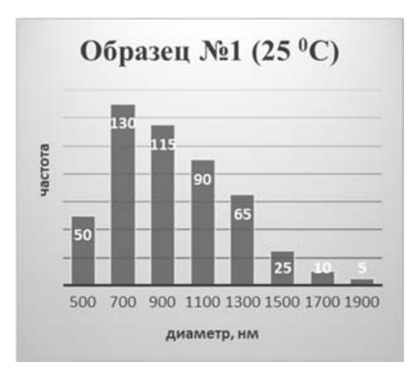
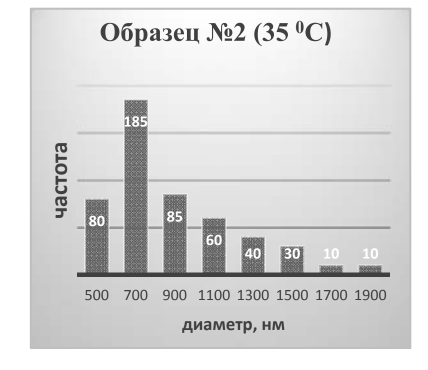
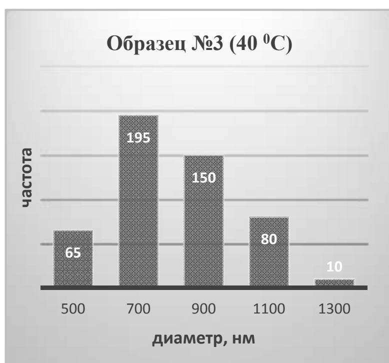


Рис. 1 Микрофотографии водной дисперсии ниосом на основе сорбитанмоностеарата Span 60, полиэтиленгликоля PEG-4000 и дицетилфосфата.







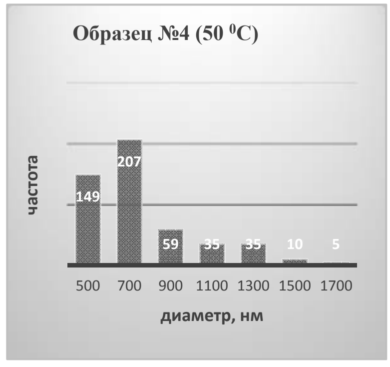


Рис. 2. Размеры ниосом при различных температурах.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Varun T., Sonia A., Bharat P.* Niosomes and Liposomes – vesicular Approach towards Transdermal Drug Delivery. International journal of pharmaceutical and chemical sciences, 2012, 1 (3), 632–644.

2. *Sankhyan A. and Pawar P.* Recent trends in noisome as vesicular drug delivery system, Journal of Applied Pharmaceutical Science, 20102, 2, 20–32.

3. *Gannu P. Kumar, Pogaku Rajeshwarrao* Nonionic surfactant vesicular system for effective drug delivery – an overview. Acta Pharmaceutica Sinica B. 2011, 1(4), 208–219.

4. *Dass C.R., Walker T.L., Burton M.A., Decruz E.E., J. Pharm*. Pharmacol. 1997, 49, 972–975.

5. *Bayindir, Zerrin Sezgin & Yuksel, Nilufer.* Characterization of niosomes prepared with various nonionic surfactants for paclitaxel oral delivery. Journal of pharmaceutical sciences, 2010, 99.

6. Barry B.W. *Novel mechanisms and devices to enable successful transdermal drug delivery. European Journal of Pharmaceutical Sciences V. 14, September. 2001, 101–114.*

7. *Дискаева Е.И., Вечер О.В., Алтахов А.С.* Статистический анализ размеров частиц ниосомальной дисперсии при различных температурах. Успехи современной науки и образования. 2017, 5(2), 170–173.

DETERMINATION OF THE AVERAGE SIZE VESIKUL NIOSOM AS FUNCTIONS OF TEMPERATURE

K.S. Elbekyan, E.I. Diskaeva, O.V. Evening

ABSTRACT

In this paper, we studied the effect of heating niosom dispersion based on Span 60 on particle sizes. It is shown that with increasing temperature a decrease in the average diameter of vesicles by niosom is observed on average by 25%.

Keywords: niosomal dispersion, Span 60, vesicles.

УДК 544.7.620.3:61

Поступила: 14.01.2019г.
Сдана на рецензию: 15.01.2019г.
Подписано к печати: 25.01.2019г.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ И ГЕНОТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ «ЗЕЛЕНЫХ» НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА*

Т. Геворгян*[1]*, С. Оганян*[1]*, М. Петросян*[1]*, Г. Киракосян*[2]*,
***А. Оганесян*[1]*, Н. Айвазян*[2]**

[1]Российско-Армянский университет, ИМБиФ,
кафедра медицинской биохимии о биотехнологии
[2]НИИ физиологии им. Л. Орбели НАН РА

petrosjan.mariamik@mail.ru, ashhovhannisyan@mail.ru

АННОТАЦИЯ

Токсичность наночастиц (НЧ), синтезированных разными физико-химическими методами является одной из основных проблем для их применения. НЧ, синтезированные при помощи растительных экстрактов «зелёные» НЧ, являются менее токсичными в сравнении с другими методами их конгрегации. В связи с этим, очень актуальным является синтез менее токсичных НЧ с использованием растительных экстрактов и выявление их действия на разные биологические системы.

Полученные нами «зеленые» НЧ серебра (AgNP) с помошью экстракта базилика армянского (*O.araratum*) были исследованы на наличие цито- и генотоксичных свойств. Результаты показали, что совместное воздействие AgNP с экстрактом при темновой инкубации на

* *Работа выполнена при финансовой поддержке РАУ за счет средств субсидий Министерства Образования и Науки Российской Федерации.*

эритроциты человека приводило к полному гемолизу через 24 ч., что обусловлено цитотоксичностью AgNP. При исследовании прямого воздействия 50% этанольного *O.araratum* и AgNP на геномную ДНК клеток саркомы S-180 не выялено наличие генотоксичных свойств.

Ключевые слова: наночастицы серебра, RBC тест, цитотоксичность, ДНК ретардация, генотоксичность.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что НЧ обладают несколькими потенциальными опасностями, включая канцерогенность, генотоксичность, цитотоксичность и общую токсичность. Размеры инженерных наноматериалов-НЧ настолько малы, что могут пройти сквозь кожу, легкие и кишечный тракт с неизвестными последствиями для здоровья человека [12]. В связи с этим, очень актуальной темой является синтез менее токсичных НЧ с использованием растительных экстрактов и выявление их действия на разные биологические системы.

Наночастицы серебра имеют отличительные бактерицидные свойства, которые привели к появлению новых применений в биомедицине [17]. Известно, что AgNP индуцируют быстрое заживление ран. Они оказывают противомикробные свойства, уменьшают воспаление и модулируют экспрессию цитокинов, тем самым обеспечивая новый терапевтический способ для лечения ран [16, 19]. Медицинские полимеры, пропитанные AgNPs, используются в качестве покрытий для медицинского оборудования с целью уменьшения вероятности распространений инфекций [6]. Несмотря на это, есть сведения о цито- и генотоксичности наночастиц серебра, что уменьшает спектр их применения [2, 7, 10, 11, 20].

Ocimum (базилик) включает более 150 видов и считается одним из крупнейших родов семейства *Lamiaceae* (Яснотковые). Все больше возрастает интерес к изучению свойств растений этого рода в связи с широким распространением, частым использованием в национальной

кухне и традиционной медицине разных народов, т.к. содержит большой спектр вторичных метаболитов [15]. Главными вторичными метаболитами рода *Ocimum* являются эфирные масла, фенольные компоненты и антоцианины [5]. В базилике обнаружены также розмариновая и кофейная кислоты, обладающие сильными антибактериальными и противовоспалительными свойствами [14]. Флавоноиды и другие фенольные компоненты базилика обладают широким спектром свойств, а такой класс флавоноидов, как антоцианины обеспечивают характерный цвет пурпурных видов данного рода [4].

Целью представленной работы было *in vitro* исследование цитотоксических и генотоксических свойств «зеленых» наночастиц серебра взаимодействием с эритроцитами человека и с геномной ДНК раковой линии саркомы S-180.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Получение растительных экстрактов

Базилик армянский *(Ocimum araratum),* был собран в период цветения 2016-2017 годов в Араратской области Армении. Стебли растения после предварительной промывки стерилизовали в 1% растворе гипохлорита натрия и высушивали до 10% влажности. Растительный материал был измельчён до получения однородного порошка. Смешивали с экстрагентом в соотношении 1:30, в качестве экстрагента применялся 50% этанол, разбавленный фосфатным буфером (pH=7.4, 0.1мМ), далее взвесь 15 мин подвергали ультразвуковому воздействию при 75Вт (Ultrasonic Homogenizer, Sonic-150W, MRC, Израиль), после чего 24ч инкубировали на качалке в темновых условиях (60–70 об/мин), отфильтровывали и центрифугировали 15 минут при 3000 об/мин на центрифуге Jouan GR412 (Германия). По анализу ВЭЖХ в 50% этанольном экстракте *Ocimum araratum*, обнаружена розмариновая кислота (РК) в концентрации 5,43 мкг/мл.

Получение наночастиц серебра с помощью этанольного экстракта *Ocimum araratum*

Растительный экстракт добавляли к раствору нитрата серебра. Переход Ag^{+1} до Ag^{0} подтверждался изменением цвета раствора от бесцветного до коричневого. Его образование также было подтверждено спектроскопическим методом. Спектральный анализ проводили с использованием спектрофотометра UV/Vis (JENWAY 6405, Швейцария). Синтез наночастиц происходит при комнатной температуре и завершается за несколько минут. Для получения зеленых НЧ серебра был выбран 50% этанольный экстракт *Ocimum araratum* в связи с тем, что предварительный скрининг АРА и ОСФ разных экстрактов выявил максимальное значение АРА и ОСФ именно у этого экстракта (данные не приводятся).

RBC тест определения цитотоксичности экстракта и наночастиц

Для получения эритроцитов кровь здоровых доноров центрифугировали при 1500 об/мин в течение 5 мин, далее осажденные эритроциты дважды отмывали центрифугированием при тех же условиях в физиологическом растворе. Осажденные эритроциты ресуспендировали в фосфатном буфере (137 мМ NaCl; 2.7 мМ KCl; 8.1 мМ Na_2HPO_4; 1.5 мМ KH_2PO_4). Оптическая плотность суспензии эритроцитов составляла 0.7 оптических единиц ($6.2 \cdot 10^6$/мл эритроцитов).

Резистентность (устойчивость) эритроцитов оценивали по изменению оптической плотности суспензии эритроцитов при 680 нм в течение 10–15 мин, снимая показания через каждые 30 сек, на спектрофотометре UV/Vis (JENWAY 6405, Швейцария). Действие экстрактов и наночастиц на эритроциты оценивалось их резистентностью (Р), определение которого проводили по формуле:

$$Р = А_х/(А_0-А_г)\cdot 100\%,$$

где A_x – оптическая плотность (ОП) образца после облучения в течение x времени; A_0 – ОП негемолизированной суспензии эритроцитов, $A_г$ – ОП образца после полного гемолиза, которая не достигает нулевого значения из-за образования гемихрома.

Получение модели саркомы S-180 у мышей

Исследования проведены на белых беспородных мышах-самцах (вес 25 ± 2 г). Мыши были отобраны из вивариума Института физиологии им. Л.А. Орбели НАН РА. Все действия проводились в соответствии с Принципами лабораторного ухода за животными в Комитете по этике Ереванского государственного медицинского университета (Ереван, Армения) и в соответствии с решением от 22 сентября 2010 года Совета европейских сообществ (2010/63/EU).

Для приготовления препарата к чистой культуре саркомы S-180 без кровеносных сосудов добавляли 3 мл физического раствора и проводили гомогенизацию ткани. 0.5 мл клеток саркомы S-180 трансплантировали подкожно каждой мыши. Через 11 дней из 5-ти мышей изымали ткань саркомы и готовили препараты ДНК из клеток саркомы S-180.

Экстрагирование геномной ДНК из клеток саркомы S-180

Изоляция геномной ДНК проводилась с помощью набора apeqGOLD MicroSpin Tissue DNA Kit (PeQ lab Biotechinologie GmbHErlangen, Германия).

Метод ретардации ДНК

Исследование прямого взаимодействия 50% этанольного экстаракта базилика *Ocimum araratum* и НЧ Ag с геномной ДНК клеток саркомы S-180 в зависимости от концентрации проводили измерением электрофоретической подвижности геномной ДНК в 0.8%-ом агарозном геле. Для приготовления буферных растворов использовали трис-

ацетатный буферный раствор (TAE). Для приготовления 1×TAE буфера к 20 мл концентрированного 50×TAE буфера добавляли дистиллированную воду и, тщательно перемешивая, доводили до 1л. 0.8 г агарозы растворяли в 100 мл 1×TAE буфера [Wang et al., 2012]. Электрофорез на агарозном геле проводили при 100 В, 60 мин.

Статистическая обработка результатов

Методами порядковой статистики проводили анализ данных, полученных в результате спектрофотометрии. При нормальном распределении данных применяли методы параметической статистики, в том числе порядковую статистику и непарный t-тест Стьюдента. Вычисления проводились с применением программы Microsoft Office Excel 2007. Статистически значимым значением было принято $p<0.05$. Биологическая повторность опытов 4–6 кратная при проведении 2–3 серий опытов в каждом. Средне арифметические и стандартные ошибки приводятся на графиках, таблицах и диаграммах ($n = 8–12$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

RBC тест НЧ Ag в 50% этанольном экстракте *Ocimum araratum*

Для оценки цитотоксической активности экстракта и синтезированных НЧ серебра, проводили RBC тест. Гемолитическое действие экстрактов (1,75 мкг/мл стандартизованные по розмариновой кислоте) и НЧ исследовали при темновой инкубации с эритроцитарной взвесью здоровых доноров. Надо отметить, что РК не обладает гемолитической активностью, так как обладает мембранопротекторными свойствами [1]. Результаты исследования приведены на Рис. 1.

При темновых условиях гемолиз 50% этанольного экстракта *Ocimum araratum* начинался с 15 мин, а к 60 мин практически наблю-

дался полный гемолиз. AgNP полученные непосредственно с 50% этанольным экстрактом *Ocimum araratum* через 20 минут приводили к гемолизу на 28%. По происшествию 60 минут наступает гемолиз на приблизительно 16%.

Действие 50% этанольного экстракта *Ocimum araratum* и НЧ Ag через 24 часа приводило к полному гемолизу, что обусловлено цитотоксичностью как экстракта, так и НЧ Ag.

Взаимодействие 50% этанольного экстаракта базилика и НЧ Ag с геномной ДНК опухолевых клеток.

Исследование прямого взаимодействия геномной ДНК клеток саркомы S-180 с 50% этанольным экстарактом базилика и НЧ Ag в зависимости от концентрации проводили методом ретардации ДНК [9]. Приведены результаты ДНК электрофореза в зависимости от концентрации экстракта базилика и НЧ Ag при 30-минутной инкубации (Рис. 2).

Используемым методом ретардации фрагментов ДНК в агарозном геле нами показано, что непосредственного взаимодействия с геномной ДНК клеток раковой линии саркомы S-180 в пределах концентраций экстракта базилика *Ocimum araratum* (1.75 мкг/мл) и НЧ серебра от 0,56 мг/мл – 4,5 мг/мл и при инкубации до 30 мин не наблюдается. НЧ Ag так же не связываются с ДНК, что указывает на низкую генотоксичность этих препаратов.

Относительно прямого действия НЧ Ag на геномную ДНК есть противоречивые данные. В целом, многие исследования, опубликованные до сих пор, сообщают о генотоксичности для различных AgNPs. Некоторые из них разъясняют возможные зависящие от размера эффекты, демонстрируя увеличение повреждения ДНК корреллирующие от размеров НЧ, варьирующие в пределах 10–75 нм, покрытые цитратом, или 50–200 нм без покрытия [3, 18].

В настоящем исследовании мы не наблюдали генотоксичность «зеленых» НЧ серебра с непосредственным взаимодействием геномной ДНК клеток S-180, приводящее к повреждениям ДНК, что возможно зависит от размеров исследованных наночастиц (12±5нм).

На основе полученных результатов, можно сказать, что «зеленые» НЧ Ag с экстрактом базилика являются цитотоксичными, но не генотоксичными, что расширяет возможности применения этих НЧ как новых терапевтических агентов.

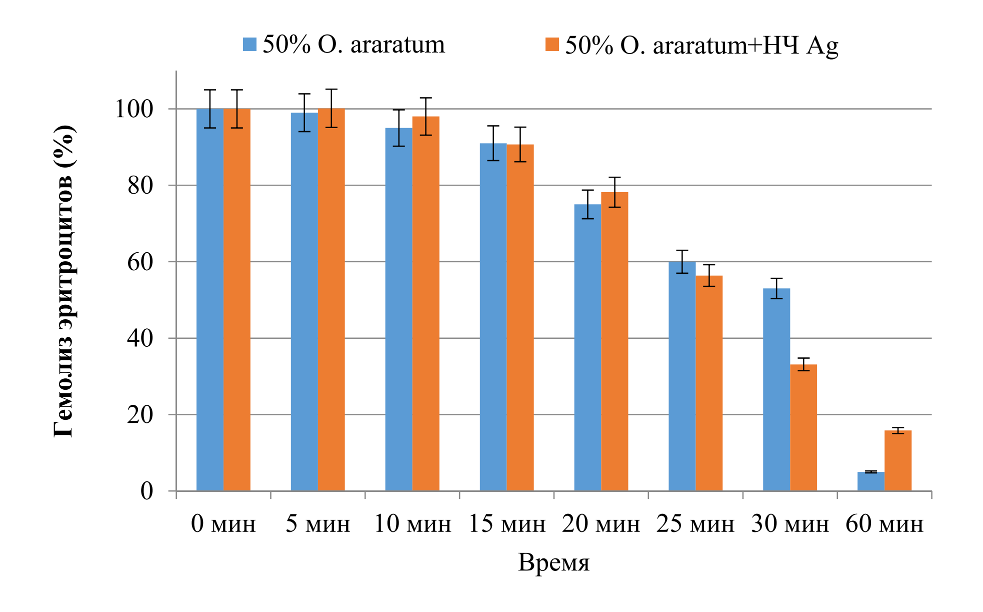


Рис. 1. Воздействие водно-спиртовых экстрактов Ocimum araratum с НЧ Ag при темновой инкубации на гемолиз эритроцитов.

Рис. 2. Электрофоретическая подвижность геномной ДНК клеток раковой линии саркомы S-180: 1 – геномная ДНК саркомы S-180 без добавлении экстракта и НЧ (контроль); 2 – при 30 мин инкубации с экстрактом базилика; и при 30 мин инкубации с экстрактом базилика и с возрастающими концентрациями НЧ Ag: 3 – 0,56 мг/мл; 4 – 1,125 мг/мл; 5 – 2,25 мг/мл; 6 – 4,5 мг/мл.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Bulgakov V., Gorpenchenko T., Veremeichik G., Shkryl Y., Tchernoded G., Bulgakov D., Aminin D., Zhuravlev Y.* The rolB gene suppresses reactive oxygen species in transformed plant cells through the sustained activation of antioxidant defense. Plant Physiol, 2012, 158: 1371–1381.
2. *Butler K., Peeler D., Casey B., Dair B., Elespuru R.* Silver nanoparticles: correlating nanoparticle size and cellular uptake with genotoxicity. Mutagenesis, 2015, 30, 577–591.
3. *Che, B., Luo, Q., Zhai, B., Fan, G., Liu, Z., Cheng, K. and Xin, L.* Cytotoxicity and genotoxicity of nanosilver in stable GADD45α promoter-driven luciferase reporter HepG2 and A549 cells. Environ. Toxicol., 2017, 32, 2203–2211.

4. *Cook N.C., Samman S.* Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. Nutritional Biochemistry, 1996, 7, 66–76.
5. *Deshpande R.S., H.P. Tipnis*, Intsecticidal activity of *Ocimum Basilicum* L. Pesticides. 1997, 12, 21–28.
6. *Furno F., Morley K.S., Wong B., Sharp B.L., Arnold P.L., Howdle S.M., Bayston R., Brown P.D., Winship P.D., Reid H.J.* Silver nanoparticles and polymeric medical devices: a new approach to prevention of infection? J. Antimicrob. Chemother, 2004, 54(6), 1019–1024.
7. *Gliga, A. R., Skoglund, S., Wallinder, I. O., Fadeel, B. and Karlsson, H. L.* Size-dependent cytotoxicity of silver nanoparticles in human lung cells: the role of cellular uptake, agglomeration and Ag release. Part. Fibre Toxicol., 2014, 11, 11.
8. *Huk, A., Izak-Nau, E., Reidy, B., Boyles, M., Duschl, A., Lynch, I. and Dušinska, M.* Is the toxic potential of nanosilver dependent on its size? Part. Fibre Toxicol., 2014, 11, 65.
9. *Kirakosyan G., Mohamadvarzi M, Ghulikyan L, Zaqaryan N, Kishmiryan A, Ayvazyan N.* Morphological and functional alteration of erythrocyte ghosts and giant unilamellar vesicles caused by *Vipera latifi* venom. Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2016, 190, 48-53.
10. *Lebedová J., Hedberg Y., Odnevall Wallinder I., Karlsson H.* Size-dependent genotoxicity of silver, gold and platinum nanoparticles studied using the mini-gel comet assay and micronucleus scoring with flow cytometry. Mutagenesis. 2018, 24;33(1):77–85. doi: 10.1093/mutage/gex027.
11. *Li, Y., Yan, J., et al.* Size- and coating-dependent cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles evaluated using in vitro standard assays. Nanotoxicology, 2016, 10, 1373–1384.

12. *Malabadi R., Mulgund G., Meti N., Nataraja K., Vijaya Kumar S.* Antibacterial activity of silver nanoparticles synthesized by using whole plant extracts of Clitoria ternatea. Research in Pharmacy. 2012, 2(4), 10–21.
13. *Mukunthan K., Elumalai E., Patel T., Murthy V.* Catharanthus roseus: a natural source for the synthesis of silver nanoparticles. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2011, 270–274.
14. *Fale P.L.V., Madeira P.J.A., Florencio M. H., Ascensao L., Serralheiro M. L. M.* Function of *Plectranthus barbatus* herbal tea as neuronal acetylcholinesterase inhibitor, Food & Function., 2011, 2, 130-136.
15. *Patil D. Mhaske, D.K., Wadhawa, G.C.* Antibacterial and Antioxidant study of *Ocimum basilicum* Labiatae (sweet basil). Journal of Advanced Pharmacy Education & Research, 2011, 2, 104–112, ISSN 2249-3379
16. *Rujitanaroj, P.-o.; Pimpha, N.; Supaphol, P.* Wound-dressing materials with antibacterial activity from electrospun gelatin fiber mats containing silver nanoparticles. Polymer, 2008, 49(21), 4723–4732.
17. *Singh M.* Transferrin as a targeting ligand for liposomes and anticancer drugs. Curr. Pharm. Des. 1999, 5(6), 443–51.
18. *Souza, T. A., Franchi, L. P., Rosa, L. R., da Veiga, M. A. and Takahashi, C. S.* Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles of different sizes in CHO-K1 and CHO-XRS5 cell lines. Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen. 2016, 795, 70–83.
19. *Tian J., Wong K.K., Ho C.M., Lok C.N., Yu W.Y., Che C.M., Chiu J.F., Tam P.K.* Topical delivery of silver nanoparticles promotes wound healing. Chem. Med. Chem., 2007, 2(1), 129–136.
20. *Vecchio, G., Fenech, M., Pompa, P. P. and Voelcker, N. H.* Lab-ona-chip-based high-throughput screening of the genotoxicity of engineered nanomaterials. Small, 2014, 10, 2721–2734.

21. *Wang Y.Q. et al.* Biscarbamate cross-linked polyethylenimine derivative with low molecular weight, low cytotoxicity, and high efficiency for gene delivery. International journal of nanomedicine. 2012, 7, 693.

STUDY OF CYTOTOXIC AND GENOTOXIC PROPERTIES OF "GREEN" NANOPARTICLES OF SILVER

T. Gevorgyan, S. Oganian, M. Petrosyan, G. Kirakosyan, A. Hovhannisyan, N. Ayvazyan

ABSTRACT

The toxicity of the synthesized nanoparticles (NPs) by various physicochemical methods is one of the main problems for their application. NPs which are synthesized by using plants extracts "Green" NPs are less toxic in comparison with other methods of their congregation. Due to this, using less toxic plants extract for NPs synthesis and identification of their action on different biological systems is more relevant.

The "green" silver NPs (AgNP) obtained by us with the aid of an extract of Armenian basil (O. araratum) was investigated for the presence of cyto- and genotoxic properties. The results showed that the combined effect of AgNP with the extract during dark incubation on human erythrocytes led to complete hemolysis after 24 hours, due to the cytotoxicity of AgNP. When studying the direct effect of 50% ethanol O.araratum and AgNP on the genomic DNA of S-180 sarcoma cells, the presence of genotoxic properties was not revealed.

Keywords: silver nanoparticles, RBC test, cytotoxic, DNA retardation, genotoxic.

УДК 577.32 (547.963)

Поступила: 13.02.2019г.
Сдана на рецензию: 19.02.2019г.
Подписано к печати: 01.03.2019г.

ВИРТУАЛЬНЫЙ СКРИНИНГ ФЛАВОНОВ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ КАК ИНГИБИТОРОВ РЕГУЛЯТОРА ТРАНСКРИПЦИИ LASR СИНЕГНОЙНОЙ ПАЛОЧКИ

Н.Н. Абелян

Российско-Армянский Университет

narek.abelyan@rau.am

АННОТАЦИЯ

Всемирная организация здравоохранения объявила список самых опасных бактерий, где среди приоритетных была синегнойная палочка (*Pseudomonas aeruginosa*) – оппортунистический патоген человека. Кворум-сенсинг – это система координации группового поведения, которая контролирует образование факторов вирулентности и биопленок у синегнойной палочки. Был проведен виртуальный скрининг флавонов и их производных для нахождения лигандов, которые могут ингибировать кворум-сенсинг Pseudomonas aeruginosa при взаимодействии с основным регулятором транскрипции – белком LasR.

Ключевые слова: виртуальный скрининг, флавоны, синегнойная палочка, LasR, кворум-сенсинг.

Введение

Синегнойная палочка является одним из самых распространенных возбудителей нозокомиальных инфекций, особенно легко пора-

жающих лиц с ослабленным иммунным статусом [1]. Бактерии синегнойной палочки размножаются в организме хозяина, не нанося ущерба, но при достижении определённой концентрации они объединяются в сообщества (биопленка), где, секретируя молекулярные сигналы, ответственные за клеточную коммуникацию (кворум-сенсинг (QS)) [2–3] и экспрессируя гены вирулентности, могут совместно принимать решения для приспособления к особенностям среды и защиты [4–5]. Формируемая таким способом биопленка защищает всю популяцию клеток от проникновения в неё вредных веществ, в том числе и антибиотиков, сильно затрудняя лечение [6–7]. Основная система регуляторной сети QS-а синегнойной палочки включает рецепторный белок LasR [8]. В 2017 году Всемирная организация здравоохранения объявила список наиболее опасных супербактерий, где среди самых приоритетных была также синегнойная палочка (*Pseudomonas aeruginosa*) [9].

Целью представленной работы является поиск низкомолекулярных соединений, связывающихся с LasR с высокой аффинностью, что может привести к ингибированию QS методами структурной биоинформатики. В дальнейшем эти соединения могут быть использованы в качестве основы для разработки антиинфекционной терапии, основанной на QS синегнойной палочки.

Материалы и методы

В качестве мишени впервые была взята полная структура регулятора транскрипции белка LasR, виртуально реконструированная в нашей лаборатории [10] (Рис.1).

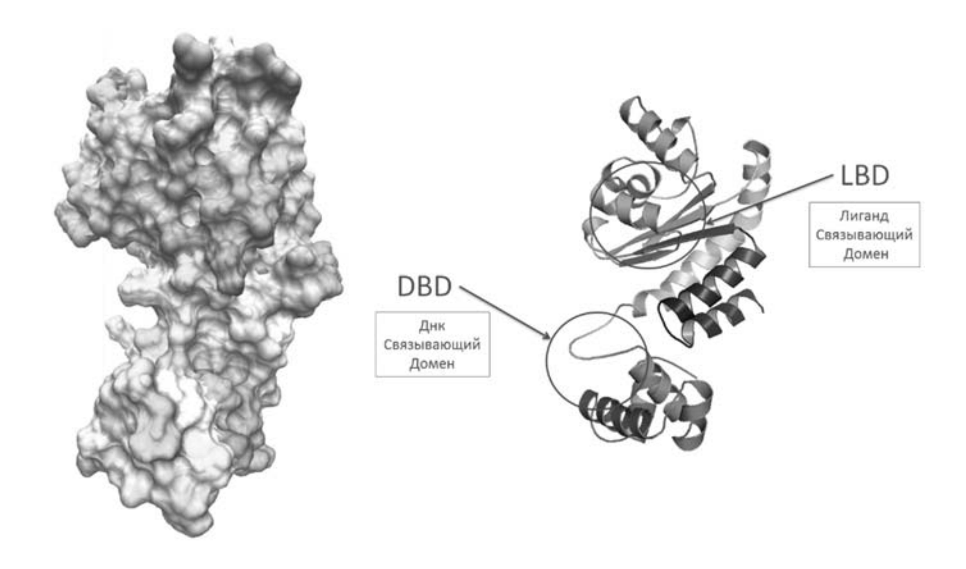


Рисунок 1. Трехмерная полная реконструированная структура рецептора LasR.

Известно, что флавоны обладают антибактериальным действием, поэтому нами был проведен виртуальный скрининг флавонов и их производных (52000 соединений) для нахождения лиганда, с высокой специфичностью связывающегося с LasR.

Была использована база данных низкомолекулярных лигандов PubChem [11], откуда методом Substructure были отобраны 51 675 флавонов и их производных. Далее осуществлялась фильтрация полученной базы данных с использованием Rule of five и Chemical Vendors, в результате чего количество соединений сократилось до 21 232 и 10 532, соответственно. Обработка данных осуществлялась посредством программного пакета OpenBabel v2.4.0 [12].

Молекулярный докинг: Осуществлялось определение пространственно-энергетических показателей исследуемых соединений (молекулярный докинг) с двумя активными центрами реконструированного рецептора LasR: лиганд связывающим доменом (ligand

binding domain, LBD) и ДНК связывающим доменом (DNA binding domain, DBD) с использованием программных пакетов AutoDockVina [13] и AutoDockTools [14].

Результаты и обсуждение

Полученные результаты докинг-анализа свидетельствуют о том, что связывание низкомолекулярных лигандов происходит сильнее с LBD, чем с DBD (Табл.1), поэтому дальнейшие исследования проводили именно с LBD LasR.

Табл.1. Результаты докинг-анализа 10 соединений с самой высокой энергией связывания с LBD (слева) и DBD (справа) LasR.

N	PubChem CID:	Energy (kcal/mol)
1.	108786995	-12.6
2.	108754324	-12.3
3.	108787038	-12.2
4.	108800047	-12.2
5.	1695677	-12.0
6.	108802999	-12.0
7.	108790351	-11.9
8.	108803145	-11.9
9.	108800021	-11.8
10.	108786994	-11.8

N	PubChem CID:	Energy (kcal/mol)
1.	60617261	-10.9
2.	46684079	-10.5
3.	108773117	-10.2
4.	16297521	-10.2
5.	24335408	-10.1
6.	16505442	-10.0
7.	108773119	-10.0
8.	31836827	-10.0
9.	41418450	-10.0
10.	52655891	-9.9

Современные программы докинга не являются совершенными, так как для своих расчетов они используют упрощённые модели квантово-химических взаимодействий и менее ресурсозатратные алгоритмы. Для получения более достоверных результатов был проведён молекулярный докинг тех же 10532 соединений с LBD LasR с использованием другого программного пакета rDock [15]. Важно отметить что

rDock [15] сам по себе не предусматривает возможности проведения виртуального скрининга и с этой целью был написан небольшой скрипт на программном языке Python 3.6 [16] с использованием интегрированной среды PyCharm [17]. Также rDock [15] является однопоточным программным обеспечением, а поскольку современные компьютеры многопроцессорные, то для параллельного запуска rDock [15] на 8 процессорах был написан еще один скрипт. Таким способом нам удалось сократить время работы программы от 80 до 10 дней.

Так как нами использовались две различные программы докинга, возникла необходимость обработки полученной биологической информации. Была разработана методика идентификации, сравнения и автоматической нормализации биологической информации для программ rDock[15] и AutoDockVina [13], работающих в области докинг-анализа.

Первый шаг разработанной методики включает нормализацию полученных результатов и создание общей оценочной системы. В табл.2. представлены 10 соединений из полного списка, включающего 10 532 наименований.

Табл.2. Соединения, показавшие высокую нормализованную оценку связывания с LBD по rDock [15] (слева) и AutoDockVina [13] (справа).

N	PubChem CID:	
1.	16801690	20.0
2.	2817219	19.7588
3.	18568736	19.168
4.	82046503	19.1276
5.	25555952	18.9769
6.	93713806	18.9579
7.	21000649	18.9465
8.	18568755	18.9408
9.	93713804	18.7121
10.	108811376	18.6545

N	PubChem CID:	
1.	108786995	20.0
2.	108754324	19.24
3.	108787038	18.9867
4.	108800047	18.9867
5.	1695677	18.48
6.	108802999	18.48
7.	108790351	18.2267
8.	108803145	18.2267
9.	108800021	17.9733
10.	108786994	17.9733

Вторым шагом являлось суммирование нормализованных оценок для каждого химического соединения, полученных программами rDock [15] и AutoDockVina [13] (Рис.2).

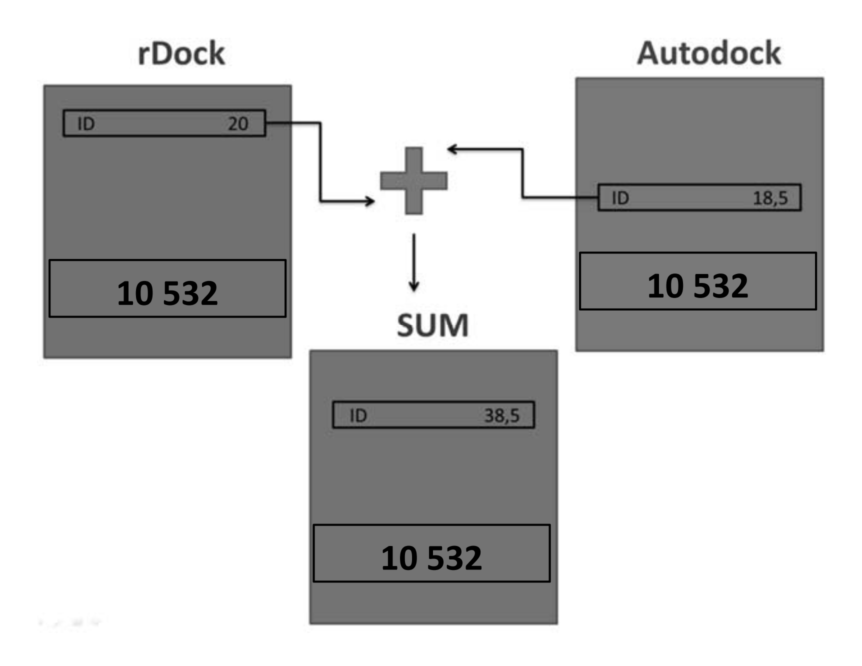


Рисунок 2. Схема работы алгоритма.

Третьим шагом являлось ранжирование соединений по их суммарной оценке. То есть в верхней части списка находятся соединения, получившие хорошую предсказательную оценку обеими программами. В табл.3. представлены 10 соединений из полного списка.

Как видно из Табл.3, с LasR LBD наиболее сильно связывается N-(1,3-benzodioxol-5-ylmethyl)-4-(6,8-dimethyl-4-oxochromen-2-yl)benzamide (PubChem CID: 108786995). Полученные нами результа-

ты согласуются с экспериментальными данными о сильном антибактериальном действии бензамидов [18] которые при этом усиливают антибиопленочную активность антибиотиков.

Табл.3. Соединения, получившие хорошие оценки программами rDock [15] и AutoDockVina [13].

N	PubChem CID:	Autodock	rDock	SUM
1.	108786995	20.0	16.3784	36.3784
2.	108754324	19.24	16.6034	35.8434
3.	108800047	18.9867	15.227	34.2137
4.	108786994	18.9867	16.2301	34.2034
5.	108787038	18.48	15.182	34.1687
6.	108754330	18.48	17.2745	33.7278
7.	108802999	18.2267	15.2046	33.6846
8.	108773119	18.2267	17.2077	33.661
9.	108811376	17.9733	18.6545	33.5878
10.	108800021	17.9733	15.323	33.2963

На рисунке 3 представлен докинг N-(1,3-benzodioxol-5-ylmethyl)-4-(6,8-dimethyl-4-oxochromen-2-yl)benzamide с LBD LasR.

Для визуалицаии данных использовались программные пакеты MarvinSketch [19], PyMOL[20] и VMD[21].

При анализе конформации, полученной программой AutoDock [13], оказалось, что CID 108786995 образует водородную связь с высококонсервативным Tyr64 LBD LasR. А при анализе конформации, полученной программой rDock [15], оказалось что CID 108786995 образует водородную связь с Tyr 64, а также предсказана возможность образования водородной связи с высококонсервативным Trp60 LBD LasR (Рис.3).

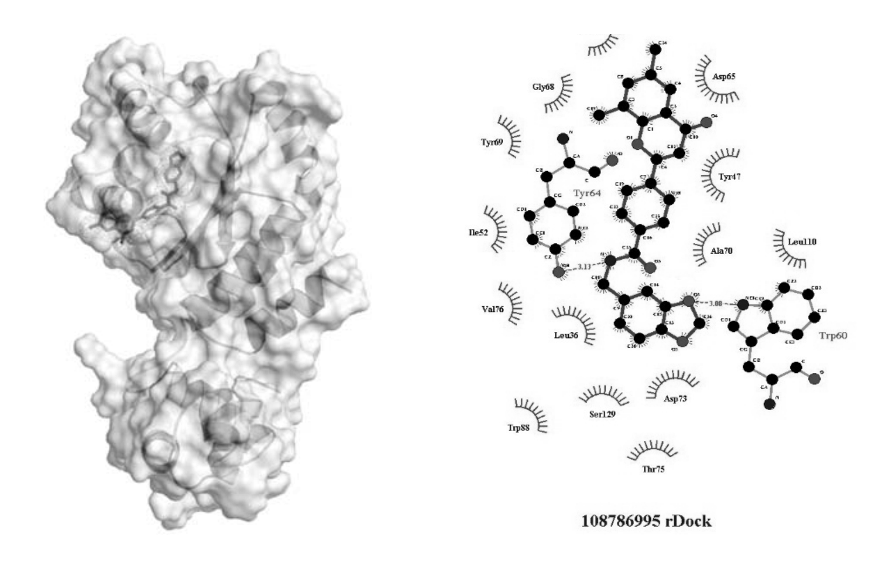


Рисунок 3. Докинг N-(1,3-benzodioxol-5-ylmethyl)-4-(6,8-dimethyl-4-oxochromen-2-yl) benzamide с LBD LasR (слева). Анализ гидрофобных взаимодействии и водородных связей CID 108786995 с LBD LasR, полученный в результате докинга программой rDock [15] (справа).

Заключение

Согласно полученным нами результатам, можно прийти к выводу, что большинство исследуемых низкомолекулярных лигандов, рассматриваемых в качестве потенциальных антибактериальных лекарственных соединений, взаимодействуют с LBD LasR *P. aeruginosa* с большей энергией связывания, нежели с DBD. Результаты разработанной нами методики виртуального скриннинга согласуются с недавно опубликованными экспериментальными данными, свидетельствующими о высокой антибактериальной активности бензамидов [9]. Это является высокой оценкой компетентности нашей методики в научно-исследовательской и практической областях драг-дизайна. Важно отметить, что отобранные в результате виртуального скрининга соединения удовлетворяют критериям, необходимым для их рассмотрения

в качестве лекарственных. Они могут в дальнейшем использоваться в *in vitro* и *in vivo* экспериментах для разработки современной антиинфекционной терапии, основанной на стратегии ингибирования регуляторной сети системы кворум-сенсинга *P. aeruginosa*.

ЛИТЕРАТУРА

1. *De Bentzmann, Sophie, and Patrick Plésiat*. The Pseudomonas aeruginosa opportunistic pathogen and human infections. Environmental microbiology 13.7 (2011): 1655–1665.
2. *Williams, Paul, and Miguel Cámara*. Quorum sensing and environmental adaptation in Pseudomonas aeruginosa: a tale of regulatory networks and multifunctional signal molecules. Current opinion in microbiology 12.2 (2009): 182–191.
3. *Rutherford, Steven T., and Bonnie L. Bassler*. Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control. Cold Spring Harbor perspectives in medicine 2.11 (2012): a012427.
4. *Moré, Margret I., et al.* Enzymatic synthesis of a quorum-sensing autoinducer through use of defined substrates. Science 272.5268 (1996): 1655–1658.
5. *Parsek, Matthew R., et al.* Acyl homoserine-lactone quorum-sensing signal generation. Proceedings of the National Academy of Sciences 96.8 (1999): 4360–4365.
6. *Ochsner, Urs A., Armin Fiechter, and Jakob Reiser*. Isolation, characterrization, and expression in Escherichia coli of the Pseudomonas aeruginosa rhlAB genes encoding a rhamnosyltransferase involved in rhamnolipid biosurfactant synthesis. Journal of Biological Chemistry 269.31 (1994): 19787–19795.

7. *Pearson, James P., et al.* A second N-acylhomoserine lactone signal produced by Pseudomonas aeruginosa.Proceedings of the National Academy of Sciences 92.5 (1995): 1490–1494.
8. *Pérez-Pérez, Martín, et al*. Quorum sensing inhibition in Pseudomonas aeruginosa biofilms: new insights through network mining. Biofouling 33.2 (2017): 128–142.
9. World Health Organization: WHO http://www.who.int/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed
10. *Grabski H. et al.* Interaction of N-3-oxododecanoyl homoserine lactone with transcriptional regulator LasR of *Pseudomonas aeruginosa*: Insights from molecular docking and dynamics simulations //bioRxiv. 2017. CC. 121–681.
11. *Pawson, Adam J., et al*. The IUPHAR/BPS Guide to PHARMACOLOGY: an expert-driven knowledgebase of drug targets and their ligands.Nucleic acids research 42.D1 (2013): D1098-D1106.
12. *O'Boyle, Noel M., et al*. Open Babel: An open chemical toolbox // Journal of cheminformatics 3.1 (2011): 33.
13. *Trott, Oleg, and Arthur J. Olson*. Auto Dock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading //Journal of computational chemistry 31.2 (2010): 455–461.
14. *Morris, Garrett M., et al*. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. Journal of computational chemistry 30.16: 2785–2791 (2009).
15. *Li, Li, Rong Chen, and Zhiping Weng*. RDOCK: refinement of rigid-body protein docking predictions." Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics 53.3 (2003): 693–707.
16. *Van Rossum, Guido, and Fred L*. Drake. Python tutorial. Open Documents Library, 1999.

17. *Prata, David N., et al.* "Social Data Analysis of Brazilian's Mood from Twitter. International Journal of Social Science and Humanity 6.3 (2016): 179.
18. *Maura, Damien, and Laurence G. Rahme*. Pharmacological inhibition of the Pseudomonas aeruginosa MvfR quorum-sensing system interferes with biofilm formation and potentiates antibiotic-mediated biofilm disruption. Antimicrobial agents and chemotherapy 61.12 (2017): e01362–17.
19. *Csizmadia, Ferenc. J.Chem*: Java applets and modules supporting chemical database handling from web browsers // Journal of Chemical Information and Computer Sciences 40.2 (2000): 323–324.
20. *DeLano, Warren L.* The PyMOL user's manual. DeLano Scientific, San Carlos, CA 452 (2002).
21. *Humphrey, William, Andrew Dalke, and Klaus Schulten*. VMD: visual molecular dynamics // Journal of molecular graphics 14.1 (1996): 33–38.

VIRTUAL SCREENING OF FLAVONES AND THEIR DERIVATIVES FOR INHIBITION OF TRANSCRIPTIONAL REGULATOR LASR OF *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

N. Abelyan

ABSTRACT

World Health Organization has announced the list of the most dangerous superbugs and among them is *Pseudomonas aeruginosa*, an opportunistic human pathogen. Quorum sensing is a cell-cell communication system and it controls the production of virulence factors and biofilm formation. Virtual screening of natural flavones and their derivatives was performed to search for ligands which can serve as quorum sensing inhibitors.

Keywords: virtual screening, flavones, Pseudomonas aeruginosa, LasR, quorum sensing.

УДК 591.5

Поступила: 02.04.2019г.
Сдана на рецензию: 05.04.2019г.
Подписано к печати: 15.04.2019г.

РАЦИОН ПИТАНИЯ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА СОНЕВЫХ (MYOXIDAE) АРМЕНИИ

А.М. Саргсян

Научный центр зоологии и гидроэкологии НАН РА

hayk.s.mdd@gmail.com

АННОТАЦИЯ

Семейство соневых (*Myoxidae*) наименее мало исследованная группа среди отряда грызунов (*Rodentia*) как в Армении, так и во всем мире. Особенности их экологии, этологии, эмбрионального и постэмбрионального развития, рациона и т.д. оставались мало освещенными или неизвестными до настоящего времени. Статья посвящена изучению рациона питания представителей семейства соневых Армении. Результаты данной статьи имеют большую теоритическую и практическую значимость в изучении экологии семейства соневых.

Ключевые слова: отряд грызуны, соневые, рацион, растительная пища, животная пища.

Введение

Все 26 вида семейство соневых (*Myoxidae*), согласно их рациону питания, можно условно разделить на 3 большие группы; преимущественно питающиеся растительной пищей, преимущественно питающиеся пищей животного происхождения, а также пищей смешанного типа. К группе преимущественно питающиеся растительной пищей,

можно отнести 3 вида: *Muscardinus*, *Myoxus* и *Glirulus*. К группе, преимущественно питающихся пищей животного происхождения, нужно, в первую очередь, отнести представителей рода *Selevinia* и некоторых представителей рода *Graphiurus*. Все остальные виды относятся к самой большой из групп, где преобладает смешанный (растительный и животный) тип питания [6].

В ходе работы изучались содержимое желудков 43 особей, 20 из которых с помощью определителей индентифицировали как вид лесная соня (*Dryomys nitedula*), 20 – большая соня (*Glis glis*) и 3 – как садовая соня *(Eliomys quercinus).*

У группы смешанного типа питания переход от пищи животного происхождения к растительному и его соотношение зависят от нескольких факторов – таких, как: время года, биотоп и т.д.

Надо отметить, что данное разделение условно, так как в семействе соневых нет таких видов, которые питались бы только пищей животного или растительного происхождения.

Представители семейства соневых, преимущественно питающихся растительной пищей, предпочитают в своем рационе: орехи, желуди, семена, ягоды, фрукты, а также вегетативные части растений.

Семейставо соневых питается различными плодами, в основном весной и летом, подготавливая себя к спячке, а вегетативными частями растений (например: молодыми побегами хвойных деревьев) – уже осенью.

Представители семейства соневых (*Myoxidae*), преимущественно питающихся животной пищей, предпочитают насекомых и других беспозвоночных, в том числе мелких позвоночных животных и яйца птиц.

Значителен тот факт, что из всех трех видов сонь, встречающихся в РА, только садовая соня (*Eliomys quercinus*) больше всего склонна к хищничеству, особенно в биотопах, где преобладают хвойные деревья, поскольку такие местности небогаты пищей растительного происхождения для питания соответствующего вида.

Методы: анализ желудков в поле проводились пользуюсь макроскопической техникой, а в лаборатории прибегали к помощи микроскопа. В обоих случаях основное внимание уделялось точному определению важнейших групп кормов – семенам, вегетативным частям растений, насекомым и т.д.

Рекомендуется разбирать содержимое желудка в свежем виде, так как свежий материал является наиболее полноценным, и в техническом отношении наиболее удобным. Хорошо сохранившаяся структура отдельных фракций содержимого, их естественный цвет и запах легко и безошибочно позволяют определять видовой состав пищи. Полевая методика состоит в следующем. Желудок сони отделяется от пищевода и кишечника, взвешивается или опускается в мензурку для определения его объема. Затем ножницами вскрывается стенка желудка, и содержимое осторожно выкладывается в сухую ванночку так, чтобы естественное расположение отдельных компонентов пищи не нарушалось. Составные части пищи, отличающиеся по цвету, запаху и консистенции, отделяются одна от другой с помощью пинцета и препаровальной иглы или скальпеля. Объем каждой фракции определяется глазомерно, например, «половина», «три четверти» и т.п. В желудках, относительно сильно наполненных (весом свыше 15–20г), разнородная пища располагается обычно хорошо обособленными слоями, в соответствии с очередностью ее поедания [4], [5].

Обособленные растительные элементы (остатки ягод, лишайники, кусочки коры, мелкие стебельки, хвоинки и т.п.) выбираются пинцетом и иглой среди всей массы пищи, подсчитываются и просматриваются под лупой. Такая же работа производится и в отношении различных животных остатков – частиц хитинового покрова, отдельных члеников насекомых и их личинок, клочков шерсти и т.п. Образцы различных фракций и частиц содержимого складываются в пробирки и фиксируются спиртом. Каждая пробирка снабжается соответствую-

щей этикеткой, под общим для желудка номером. Техническая разборка содержимого желудков на этом и заканчивается. Далее, по внешнему виду определяется род пищи, путем сравнения с заранее приготовленной коллекцией наиболее типичных образцов содержимого желудков, состав которых заведомо был известен. Такие образцы берутся из желудков сонь, выслеженных на кормежке и добытых на свежей поеди. Беловатую, маслянистую массу семян хвойных с первого же взгляда легко отличить от прочего содержимого. Под сильной лупой можно рассмотреть отдельные частицы ядерного вещества семян, мелкие темные включения из кусочков скорлупки и околоплодной оболочки, а также множество светло-желтых жировых капелек. Результаты анализа записываются на регистрационную карточку.

Результаты

Большая соня (*Glis glis*). Предпочитает в основном растительную пищу, но в то же время в ее рационе почти всегда есть животная пища. По всей вероятности, пища животного происхождения играет важную роль в жизнедеятельности большой сони.

В ходе исследований желудков пойманных особей большой сони (*Glis glis*) приблизительно у 60% особей содержимое желудка составляло только растительная пища, а у 40%, кроме растительной пищи, обнаружили также остатки пищи животного происхождения.

Доля пищи животного происхождения в их желудках составляла 15–35% от сухой массы содержимого и в зависимости от сезона и места поимки. Остатки насекомых в желудках встречались почти у 20% и лишь в малых количествах.

Исследования содержимого желудков большой сони показали, что из растительной пищи предпочтение отдается: орехам, желудям, различным семенам, спелым фруктам, ягодам, косточкам ягод и фруктов, молодым вегетативным частям растения и т.д.

Учитывая ненасытный аппетит большой сони, можно представить, какой вред она может нанести сельскому хозяйству и аграрному сектору.

Из пищи животного происхождения больше всего встречаются остатки насекомых и других беспозвоночных животных, еще реже – остатки мелких позвоночных.

В ходе исследования также было доказано, что состав и содержимое пищи зависят не только от сезона. В то же время года в различных регионах РА рацион больших сонь (*Glis glis*) весьма отличается друг от друга. Как правило, пищей в регионе служит то, что легко добыть и широко распространенно.

Это доказало причину, почему содержимое желудков у больших сонь, пойманных на территории Северной Армении, весьма отличалось от пойманных больших сонь в южной части Армении в за тот же период (Таблица 1).

Таблица 1.

Результаты исследование содержимого желудков больших сонь (Glis glis), пойманных на территории Северной и Южной Армении в зависимости от времени года.

Пища/ регион время года	***Север/весна***	***Юг/весна***	***Север/осень***	***Юг/осень***
Пища растительного происхождения	85%	80%	75%	75%
Пища животного происхождения	15%	20%	25%	25%

По результатам таблицы видно, что пища растительного происхождения преобладает в рационе у особей большой сони как весной, так и осенью.

Лесная соня (*Dryomys nitedula*). Рацион питания лесной сони (*Dryomys nitedula*) очень похож на рацион большой сони (*Glis glis*); она также питается различной пищей растительного и животного происхождения, и их соотношение также зависит от мест обитания и времени года. Лесная соня, по сравнению с предыдущим видом, в рационе питания в основном использует пищу животного происхождения, что доказывает более выраженную зависимость от пищи животного происхождения.

Итак, за период одного из таких исследований одна из самок, которая в течение 10 дней получала обильную растительную пищу, съела собственных детенышей, а остальные особи истощились и стали более вялыми [2].

По большому счету, рацион лесной сони составляет то же самое, что и пища большой сони. Из пищи растительного происхождения они предпочитают различные фрукты и их косточки, ягоды, семена, молодые вегетативные части растений, орехи, желуди и т.д. Из пищи животного происхождения предпочтения отдаются насекомым и другим беспозвоночным, мелким позвоночными животным и яйцам птиц. Известны также случаи, где пищей для лесной сони служили птицы и другие грызуны [3].

В ходе исследования содержимого желудков лесных сонь (*Dryomys nitedula*) остатки пищи животного происхождения были обнаружены у 90% пойманных особей. В то время как остатки пищи животного происхождения встречались только у 40% особей большой сони (*Glis glis*) (Таблица 2).

Таблица 2.

Результаты исследование содержимого желудков лесных сонь (Dryomys nitedula), пойманных на территории Северной и Южной Армении в зависимости от времени года.

Пища/ регион время года	**Север/весна**	**Юг/весна**	**Север/осень**	**Юг/осень**
Пища растительного происхождения	75%	70%	70%	65%
Пища животного происхождения	25%	30%	30%	35%

По результатам таблицы видно, что у особей, проживающих в южной части РА, процентное содержание пищи животного происхождения в рационе преобладает по сравнению с особями северной части.

Садовая соня *(Eliomys quercinus)*. Как и два других вида семейства соневых, садовая соня (*Eliomys quercinus*) также питается как растительной, так и животной пищей. Но, по сравнению с двумя вышеперечисленными видами, садовая соня более склонна к хищничеству и почти не питается растительной пищей [1].

Из пищи животного происхождения садовые сони *(Eliomys quercinus)* также питаются насекомыми и мелкими беспозвоночными животными. Надо отметить, что известны также случаи, когда эти животные питались более крупными животными. В частности, в исследовании содержимого желудков сонь, пойманных на разных территориях, были обнаружены остатки грызунов, змей, перьев птиц и т.д.[7], [8]. На территории Испании также встречались случаи, когда в содержимом желудка были найдены в большом количестве остатки кролика, но до сих пор не ясно, охотились ли они самостоятельно или питались падалью [9].

К сожалению, количество пойманных нами садовых сонь *(Eliomys quercinus)* было недостаточно, чтобы сделать определенные

выводы по рациону их питания, но мы можем отметить, что у всех трех особей в содержимом желудка была обнаружено пища животного происхождения, что составляло 42–48% от всей сухой массы.

Выводы

Суммируя результаты наших исследований с теоретическими данными, можно прийти к выводу, что из семейства соневых (*Mioxidae*) преимущественно склонны к хищничеству лесная соня (*Dryomys nitedula*) и садовая соня (*Eliomys quercinus*), что еще раз свидетельствует о возможных родственных связей этих двух видов.

Среди представителей лесных сонь (Dryomys nitedula) и садовых сонь (Eliomys quercinus) были особи, в желудках которых содержалась только пища животного происхождения, в то время как у особей большой сони такого не наблюдалось.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Айрапетьянц А.Э.* Сони // Издательство Ленинградского Университета, Ленинград, 1983, 192 с.
2. *Голодушко Б.З., Падутов Е.Е.* Материалы по экологии лесной сони Беловежской Пущи // Фауна и экология наземных позвоночных Белоруссии: Минск, 1961. СС. 49–70.
3. *Давыдов Г.С.* Грызуны северного Таджикистана. Душанбе: Изд-во Акад. Наук. 1964, 272с.
4. *Кирис И.Д.* Основные итоги исследований по экологии обыкновенной белки и методика работ в этой области // Научно-метод. зап. Главн. упр. по заповеди., вып. VIII, 1941. СС. 89–102.
5. *Новиков Г.А.* Полевые исследования, экология наземных позвоночных животных. М.: Изд-во «Советская наука», 1953, 503 с.

6. *Россолимо О.Л., Потапова Е.Г., Павлинов И.Я., Крускоп С.В., Волцит О.В.* Сони (Myoxidae) мировой фауны. М.: Изд-во МосковскогоУниверситета, 2001, 229с.
7. *Kahmann H., Lau G.* Der GartenschlaferEliomysquercinusophiusae Thomas, 1925 von der PityuseninselFormentera // Veroff. Zool. Staatssamml. Munchen., 16, 1972, p. 29–49.
8. *Le Louarn H., Spitz F.* Biologieetecologie du lerotEliomysquercinus L. dans les Hautes-Alpes // Terre et vie, 28 (4), 1974, PP. 544–563.
9. *Palacios F.* 1975. Estudioecologicodellironcaretogrance, Eliomysquercinuslusitanicus (Reuvens) 1890, en la reservabiologica de Donana // Bol. estac. cent. ecol., 4 (7), 1975. PP. 65–76.

DIET OF REPRESENTATIVES OF THE DORMOUSE FAMILY (MYOXIDAE) OF ARMENIA

H. Sargsyan

The family of dormouse (Myoxidae) is the least studied group among the rodent group (Rodentia), as in the Armenia and throughout the world. The features of their ecology, ethology, embryonic and postembryonic development, diet, etc., remain poorly lit or unknown until now. The article is devoted to the study of the diet of the dormouse family of Armenia. The results of this article have a great theoretical and practical value in the study of the ecology of the dormouse family.

Keywords: rodent group, dormouse, diet, plant food, animal food.

УДК 577.332

Поступила: 22.01.2019г.
Сдана на рецензию: 23.01.2019г.
Подписано к печати: 04.03.2019г.

ДОКИНГ АНАЛИЗ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ИНГИБИТОРОВ ЦИКЛООКСИГЕНАЗ*

А.Э. Манукян

ГОУ ВПО Российско-Армянский Университет, ИМБиФ

amalimanukyan95@yandex.ru

АННОТАЦИЯ

Факторами прогноза и лечения при различных злокачественных новообразованиях являются ферменты циклооксигеназы (COX), ингибирование которых можно применять в профилактике и терапии канцерогенеза. В антиопухолевой терапии рассматриваются растительные соединения как потенциальные ингибиторы COX. В результате проделанных *in silico* экспериментов впервые выявлено возможное взаимодействие и ингибирование COX-1 и COX-2 кверцетином и 3-метилкверцетином. Для сравнения полученных результатов были взяты препараты аспирин и целекоксиб. Были выявлены вероятные биологические активности и возможные побочные эффекты лигандов. Целекоксиб не проявляет активность на исследованные клеточные линии, а кверцетин и 3-метилкверцетин проявляют большую активность по сравнению с аспирином.

Ключевые слова: COX-1, COX-2, кверцетин, 3-метилкверцетин, аспирин, целекоксиб, молекулярный докинг.

* *Работа выполнена в рамках предоставленного базового финансирования ГК МОН РА N 10-2/I-1.*

Введение

Понимание основ индукции клеточной пролиферации в условиях неопластической трансформации является неотъемлемой частью подхода к профилактике и лечению онкологических заболеваний. Циклооксигеназы (COX) являются одними из маркеров прогноза и мишенями лечения злокачественных новообразований [1; 4; 8; 9]. Ферменты COX (разновидности COX-1 и COX-2) катализируют первый этап синтеза простагландинов (PGs), тромбоксанов и простациклинов. Простагландины активизируют специфические рецепторы – G белок связанные рецепторы (GPCR) [9]. PGs клеточные медиаторы воспаления, нарушение биосинтеза которых может стать причиной развития тяжелых патологических состояний: участие в реализации диспластических и неопластических процессов, а именно, в подавлении апоптотической клеточной гибели, патологическом неоангиогенезе и инвазии, а также опосредование иммуносупрессивных функций [7; 8].

COX-1 экспрессируется практически во всех тканях. В то же время, COX-2 быстро активируется в ответ на цитокины, активируется свободными радикалами, липополисахаридами, активаторами тканевого плазминогена, митогенными факторами и др. провоспалительными медиаторами и митогенными стимуляторами [14]. Снижение частоты рецидивов многих опухолей отмечалось при приеме нестероидных противовоспалительных препаратов (NSAIDs), которые являются ингибиторами COX-2, но все эти соединения вместе с ингибированием COX-2 так же подавляют активность COX-1, что приводит к отрицательному влиянию на реализацию физиологических процессов в организме. Таким образом, поиск нетоксичных и эффективных ингибиторов COX-2 продолжается по сей день [8; 11].

В последнее время исследователи уделяют особое внимание соединениям природного происхождения, обладающим противоопухолевой активностью и способным избирательно ингибировать актив-

ность COX-2 [11]. Одними из таких соединений могут являться кверцетин и 3-метилкверцетин. В ходе многочисленных исследований было выявлено антиканцерогенное действие кверцетина и 3-метилкверцетина, которые могут предотвращать эндотелиальную дисфункцию, продуцирование супероксида, вызванного ангиотензином II, ингибировать пролиферацию опухолевых клеток, вызывая апоптоз клеток [2; 7; 10].

Целью данной работы является исследование вероятного взаимодействия кверцетина и 3-метилкверцетиа методом молекулярного докинга с COX-1 и COX-2, в сравнвнии с аспирином и целекоксибом [8; 11; 13].

Методы исследования

Поиск лигандов и мишеней осуществлялся на основе проверенных статей из банка данных Pubmed. Структурные формулы лигандов были взяты из Pub Chem [CID: 5280343, 5281654, 2244, 2662]. Были определены все возможные мишени для каждого лиганда [14].

Из приблизительно 650 мишеней были удалены повторы и отобраны 25 мишене,й принадлежащих *H.sapiens*. Из отобранных 25 мишеней были исследованы COX-1 и COX-2. Моделирование мишеней проводилось на основе молекулярных моделей трехмерных структур PDB RCSB [ID: 3KK6, 5F19]. С помощью Swiss ADME были определены физико-химические параметры (табл.1) [6]. Для каждого лиганда с помощью Autodock Vina был проведен докинг анализ, достоверность которого обеспечивалась 40-кратной повторяемостью для каждого лиганда [12]. Были рассчитаны константы связывания.

Статистический анализ материала проводили на основе комплексного применения стандартных статистических методов: вычисления средних значений, стандартных отклонений, стандартных средних ошибок.

Результаты и обсуждение

Для детального изучения взаимодействия лигандов с мишенями был проведен докинг анализ с выявлением возможных сайтов связывания (табл. 2) и энергетических характеристик (табл. 3, 5).

Активные сайты COX-1 и COX-2 схожи – а.о. R120, Y355, E524 – эти аминокислоты образуют карман. В отличие от COX-1 у COX-2 произошла замена I523 на V523 и R513 на H513, что приводит к образованию дополнительного бокового кармана, из-за чего активный сайт у COX-2 становится более доступным, кроме того, последняя спираль D закручивается вверх и упрощает доступ связывания с R120 (рис. 1).

Каталитические центры у COX-1 и COX-2 также схожи и образуются а.о. Y385 и S530.

Было выявлено, что при взаимодействии лигандов с COX-1, все связывались с активным сайтом– а.к.о. Y385, R120, также все лиганды кроме кверцетина связываются с а.к.о. H90, образуя гидрофильные связи. Кверцетин и 3-метилкверцетин связываются с а.к.о.V349, а целекоксиб с а.к.о. F381, образуя гидрофобные связи (Рис. 2).

В случае COX-2 лиганды образуют гидрофильные связи с а.о.V523, который является дополнительным карманом каталитического центра. Аспирин и целекоксиб образуют гидрофильные связи с а.к.о. R120 и Y385. Кверцетин и 3-метилкверцетин, в отличие от аспирина и целекоксиба, взаимодействуют с а.к.о. R513 и P156, которые участвуют в организации каталитического центра (Рис. 3).

Полученные данные свидетельствуют о возможном связывании всех лигандов с мишенями.

Для каждого лиганда было проведено прогнозирование цитотоксического действия химических соединений с нетрансформированными (HaCaT) и трансформированными (Hs683) клеточными линиями, в результате чего были выявлены вероятные биологические активности и возможные побочные эффекты лигандов (Табл. 3, 4). Примечательно

то, что целекоксиб не проявляет активность на исследованные клеточные линии, а кверцетин и 3-метилкверцетин проявляют большую активность по сравнению с аспирином.

Из результатов следует, что кверцетин и его метилпроизводное отличаются низкой цитотоксичностью для нетрансформированных клеток, также взаимодействие с мишенями – COX-1 и COX-2 более сильное, чем с аспирином и целекоксибом.

Табл.1.

Физико-химические параметры лигандов

Физико-химические параметры лигандов	Аспирин	Целекоксиб	Кверцетин	3-Метил-кверцетин
Эмп. формула	$C_9H_8O_4$	$C_{17}H_{14}F_3N_3O_2S$	$C_{15}H_{10}O_7$	$C_{16}H_{12}O_7$
	2-acetyloxybenzoic acid	4-[5-(4-methylphenyl)-3(trifluoromethyl)pyrazol-1-yl]benzenesulfonamide	2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxychromen-4-one	2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-3-methoxychromen-4-one
Число вращ. св.	3	4	1	2
Н-акцепторы; доноры	4;1	7;1	7; 5	7; 4
растворимость	2.54 $e^{0.2}$	1.04 $e^{-0.2}$	2.11 $e^{0.1}$	4.07 $e^{-0.3}$
GI absorbtion	высокая	высокая	высокая	высокая
BBB прохождение	да	нет	нет	нет
Log Kp (проникновение в кожу) sm/s	-6.55	-6.21	-7.05	-6.31
Критерии Липинского	да	да	да	да
Критерии Ghose	да	нет	да	да
Критерии Veber	да	да	да	да
Показатель биодоступности	0.56	0.55	0.55	0.55

Табл.2.

Сайты связывания лигандов с мишенями

Мишень	Аспирин	Целекоксиб	Кверцетин	3-Метил-кверцетин
COX-1	S530; R120; Y385; H90; P156	S530;R120; Y385; H90; F381	Y355; V349; Y385; R120	Y355; V349; Y385; R120, H90
COX-2	S530; R120; Y385; V523; H90; P156	V523; R120; Y355; Y385; S530; H90	P156; H39; P153, V523, R513	G135;P156; H39; V523, P153, R513

Табл.3.

Энергетические параметры взаимодействия лигандов с COX-1и COX-2

Лиганд	Средняя мин. энергия Гиббса (кКал/М)	Константы связывания K_b (10^4)	Средняя мин. энергия Гиббса (кКал/М)	Константы связывания K_b (10^4)
Аспирин	-6.5±0.05	7,8	-6.5±0.05	7,8
Целекоксиб	-9.1±0.05	11,2	-8.8±0.05	10,8
Кверцетин	-9.4±0.05	11,4	-9.7±0.05	11,7
3-Метил-кверцетин	-8.5±0.05	10,5	-9.7±0.05	11,7

Табл.4.

Вероятные биологические активности лигандов

Лиганд	Клетки глиомымозга(Hs683)	Кератиноцы (HaCaT)
Аспирин	0.450	0.234
Целекоксиб	-	-
Кверцетин	0.458	0.205
3-Метилкверцетин	0.399	0.177

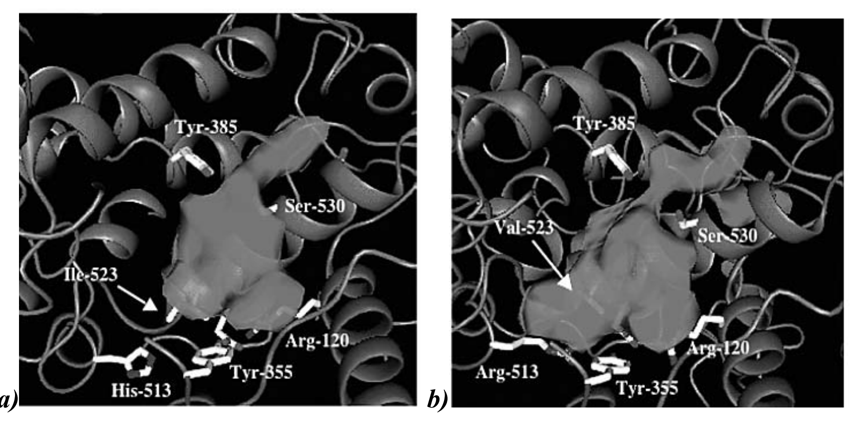


Рис. 1. Различия активных центров у a) COX-1и b) COX-2

Рис. 2. Взаимодействие с COX-1: a) аспирин, b) целекоксиб, c) кверцетин, d) 3-метилкверцетин

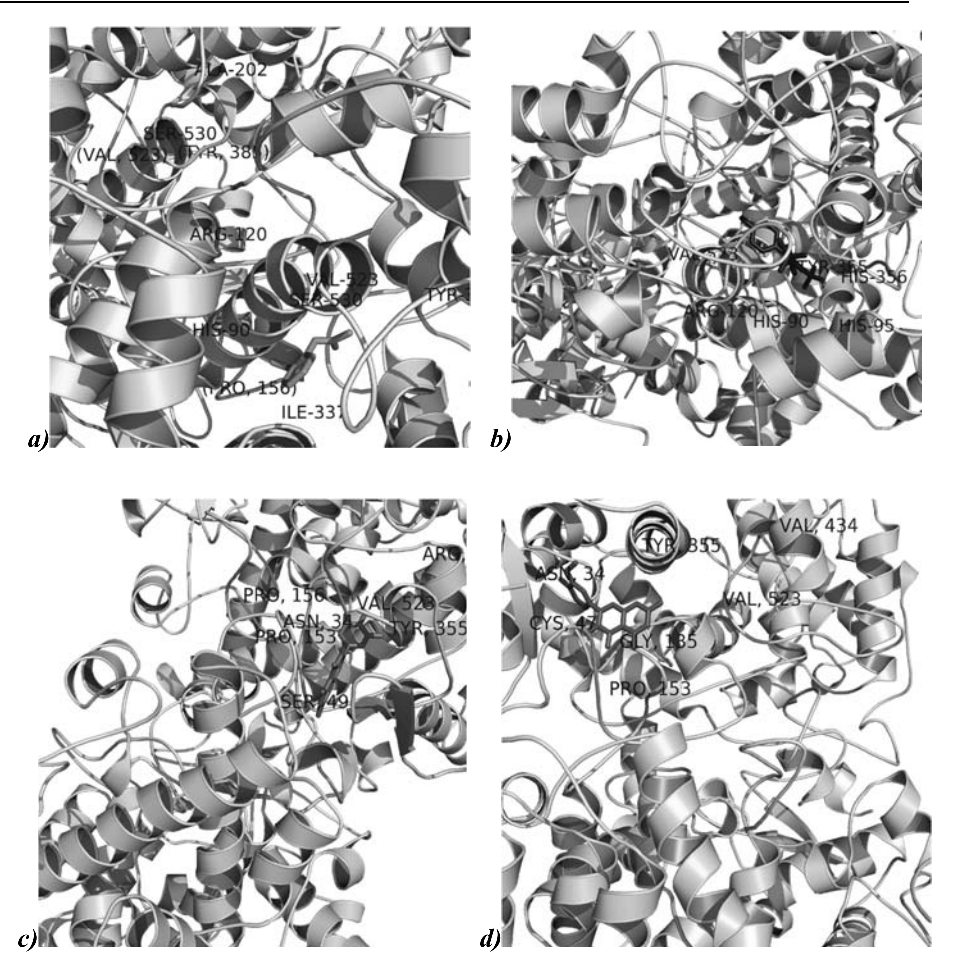


Рис. 3. Взаимодействие с COX-2: a) аспирин, b) целекоксиб, c) кверцетин, d) 3-метилкверцетин

ЛИТЕРАТУРА

1. *Al-Salam S et al*. Epstein-Barr virus infection correlates with the expression of COX-2, p16(INK4A) and p53 in classic Hodgkin lymphoma. Int J ClinExpPathol. V. 2013; 6(12), P. 2765–77

2. *Chakraborty A. et al.* An efficient protocol for in vitro regeneration of Podophyllumhexandrum, a critically endangered medicinal plant. Indian Journal of Biotechnology 9(2):217-220 2010 V. 09(2). PP. 217–220.
3. *Daina A., Michielin O., Zoete V.* SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules //Scientific Reports. 2017, V. 7. P. 42717.
4. *Dennis, Edward A., and Paul C. Norris*. Eicosanoid storm in infection and inflammation. Nature Reviews Immunology. 2015, V. 15(8). P. 511.
5. *Fantini M. et al.* In vitro and in vivo antitumoral effects of combinations of polyphenols, or polyphenols and anticancer drugs: perspectives on cancer treatment // International journal of molecular sciences. 2015, V. 16(5). PP. 9241–9249.
6. *Hashemzaei M. etal*. Anticancer and apoptosis-inducing effects of quercetin in vitro and in vivo //Oncology reports. 2017. V. 38. №. 2. PP. 819–828.
7. *Khan F. et al*. Molecular targets underlying the anticancer effects of quercetin: an update //Nutrients. 2016, V. 8. №. 9. P. 529.
8. *Leng J, Han C, Demetris AJ,* Michalopoulos GK, Wu T-Cyclooxygenase-2 promotes hepatocellular carcinoma cell growth through Akt activation: evidence for Akt inhibition in celecoxib-induced apoptosis.Hepatology. 2003. V. 38 (3). PP. 756–68.
9. *Paul AG, Chandran B, Sharma-Walia N.* Cyclooxygenase-2-prostaglandin E2-eicosanoid receptor inflammatory axis: a key player in Kaposi's sarcoma-associated herpes virus associated malignancies. Transl Res. 2013.V. 162(2). PP.77–92.
10. *Raja S. B. et al.* Differential cytotoxic activity of Quercetin on colonic cancer cells depends on ROS generation through COX-2 expression //Food and Chemical Toxicology – 2017. V. 106. PP. 92–106.

11. *Ribeiro D., Freitas M., Tomé S., Silva A., Laufer S., Lima J., Fernandes E.* Flavonoids Inhibit COX-1 and COX-2 Enzymes and Cytokine/Chemokine Production in Human Whole Blood. Inflammation 2014. V. 38 (2).
12. *Trott O., Olson A. J.* AutoDockVina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading // Journal of computational chemistry. 2010 V. 31(2). PP. 455–461.
13. *Xiao X., Shi D, Liu L, Wang J, Xie X, Kang T, Deng W.* Quercetin suppresses cyclooxygenase-2 expression and angiogenesis through inactivation of P300 signaling. PLoS One. 2011. V. 6(8).
14. *Yao Z. J. et al.* TargetNet: a web service for predicting potential drug–target interaction profiling via multi-target SAR models //Journal of computer-aided molecular design. 2016. V. 30. №. 5. PP. 413–424.
15. *Dennis E. and Norris P.* Eicosanoid Storm in Infection and Inflammation Nat Rev Immunol. 2015, 15(8): 511–523. doi: 10.1038/nri3859

DOKING ANALYSIS FOR POTENTIAL INHIBITORS OF CYCLOOXYGENASE

A. Manukyan

ABSTRACT

The markers of neoplasia are COX enzymes, the inhibition of which can be used in the carcinogenesis prevention and treatment. COX-1 and COX-2 are considered targets for tumor inhibition. In antitumor therapy, plant compounds that can inhibit COX-2 activity are considered. Such compounds are quercetin and 3-methylquercetin. For the comparison of the obtained results, preparations aspirin and celecoxib were taken. As a result of *in silico* experiments carried out the

possible interaction and inhibition of COX-1 and COX-2 by quercetin and 3-methylquercetin has been revealed for the first time. Probable biological activities and possible side effects of ligands were identified. It is noteworthy that celecoxib does not show activity on the studied cell lines, and quercetin and 3-methylquercetin are more active than aspirin.

Keywords: COX-1, COX-2, quercetin, 3-methylquercetin, aspirin, celecoxib, molecular docking.

УДК 577.32 (547.963)

Поступила: 26.02.2019г.
Сдана на рецензию: 26.02.2019г.
Подписано к печати: 20.03.2019г.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ТАКСИФОЛИНА С ЧЕЛОВЕЧЕСКОЙ ТЕЛОМЕРНОЙ ГИБРИДНОЙ G-КВАДРУПЛЕКСНОЙ ДНК С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ

Г.В. Чилингарян, Н.Н. Абелян

Российско-Армянский (Славянский) Университет

garri.chilingaryan@rau.am, narek.abelyan@rau.am

АННОТАЦИЯ

G-квадруплекс стабилизирующие лиганды проявляют цитотоксичность в отношении роста раковых клеток в *in vivo* и *in vitro* моделях. В результате десятилетних исследований взаимодействия низкомолекулярных лигандов с G-квадруплексными структурами было выявлено всего одно соединение, достигшее клинических испытаний. Основными причинами этого являются: отсутствие структурных данных высокого разрешения множества G-квадруплексных форм, а также низкая селективность исследуемых лигандов.

Нами было проведена молекулярно-динамическая симуляция взаимодействия таксифолина с теломерной G-квадруплексной ДНК человека с продолжительностью 400 нс. В результате были выявлены сайты связывания и рассчитаны энергетические параметры. Взаимодействие таксифолина с петлей G-квадруплекса наглядно демонстрирует роль незначительных различий в химической структуре лигандов в их моде связывания.

Ключевые слова: G-квадруплекс, теломеры, толекулярно-динамические симуляции, рак.

Введение

Теломеры представляют собой участок повторяющихся нуклеотидных последовательностей на конце хромосом, которые препятствует их негомологичному спариванию, повреждению во время клеточного деления, экзонуклеазной и лигазной активностям [1]. Теломерные концы ДНК человека состоят из тандемных повторов гексануклеотидных последовательностей d (TTAGGG) n 5–10 kb, которые образуют одноцепочечную 3'-концевую часть [2]. Структура и стабильность теломер связана с раком, старением, поддержанием генома и генетической стабильностью [3]. Структуры G-квадруплекса, которые образуются на дистальном 3'-конце теломер человека, предотвращают гибридизацию одной цепи ДНК с матрицей РНК теломеразы и, следовательно, рассматриваются как потенциальная мишень для новой противоопухолевой терапии, основанной на использовании низкомолекулярных лигандов [4]. Стабилизирующие G-квадруплекс лиганды продемонстрировали свою способность уменьшать рост клеток в *in vitro* и *in vivo* моделях рака [5, 6].

Исходя из молекулярной структуры и функций, таксифолин (дигидрокверцетин) близок к кверцетину и рутину, однако превосходит их по фармако-биологической активности: он менее токсичен и не является мутагеном в сравнении с упомянутыми соединениями [7]. Таксифолин известен своими антипролиферативными эффектами на различные типы раковых клеток, посредством ингибирования механизмов липогенеза раковых клеток [8].

После более чем десяти лет исследований, направленных на поиск низкомолекулярных лигандов специфически взаимодействующих с G-квадруплексными структурами только, один кандидат прошел до стадии клинических испытаний [9]. Одной из причин низкой продуктивности этих исследований является отсутствие структурных данных высокого разрешения для многих G-квадруплексных форм, а также низкая селективность G-квадруплекс связывающих лигандов. Другая проблема – это структурный полиморфизм этих биомолекул и ограничения традиционных биофизических методов при изучении этого явления [10]. Спектроскопические методы низкого разрешения, такие как круговой дихроизм или УФ-спектроскопия, недостаточно точны,

чтобы определить различия между структурными конформерами в ансамбле. Методы высокого разрешения, например ядерно-магнитный резонанс (ЯМР) и кристаллография, также предоставляют ограниченную информацию при исследовании структурного полиморфизма структур G-ДНК [11].

Молекулярное моделирование и молекулярно-динамические симуляции являются мощными инструментами для получения подробной структурной информации с целью исследования взаимодействия G-ДНК-лиганд [12]. В этом исследовании мы провели моделирование молекулярной динамики со свободным лигандом, с целью исследования способов связывания и особенностей взаимодействия таксифолина, в сравнении с кверцетином, с внутримолекулярной теломерной структурой G-квадруплекса человека. Основные сайты связывания были идентифицированы и детализировано описаны пути связывания.

Материалы и методы

Структура теломерной G-ДНК была получена из банка данных PDB (ID PDB: 2HY9) [13]. Это гибридная топология G-ДНК, формирующаяся в растворе K +. Эта топология также имеет триплет AAA, который перекрывает верхнюю тетраду теломерного G-квадруплекса гибридного типа. Известно, что адениновый триплет играет важную роль в формировании и стабилизации структуры человеческого теломерного G-квадруплекса в растворе K + [14]. 2D таксифолина была получена из базы данных PubChem [15]. Трехмерные параметры таксифолина для молекулярно-динамического моделирования были получены с использованием инструмента acpype [16] для General Amber Force Field [17] с частичными зарядами AM1-BCC. ACPYPE (AnteChamber PYthon Parser interfacE) – это скрипт Python в программном обеспечении ANTECHAMBER, который генерирует топологии и параметры малых молекул для программы GROMACS. Рисунки взаимодействия лигандов с G-квадруплексной структурой ДНК были получены с использованием инструмента VMD [18]. Диаграммы и графики электростатической и ван-дер-ваальсовой (VdW) энергий были получены с использованием модуля xmgrace программы GROMACS.

Диаграмма идентификации водородных связей была получена с помощью matplotlib [19]. Мы провели молекулярно-динамическую симуляцию G-ДНК с таксифолином с использованием программного пакета GROMACS, v 2016.5 [20]. Для моделирования было использовано силовое поле Amber ff99SB-ILDN [21]. Particle Mesh Ewald (PME) был использован для расчета электростатики на больших расстояниях. Временной шаг в 2 фс использовался во время эквилибрации. Данные регистрировались каждые 2пс. Структуры были помещены в додекаэдроновый бокс с моделью воды TIP3P, в которую были добавлены дополнительные ионы K + для нейтрализации системы. После этого была проведена минимизация энергии, а затем двухэтапная эквилибрация системы. Mdtraj использовали для идентификации образования водородных связей между таксифолином и теломерным G-квадруплексом человека. Энергетический модуль Gromacs был использован для расчетов VdW и электростатической энергии, а rms модуль был использован для расчета RMSD.

Обсуждение результатов

В ранних исследованиях нами был проведен анализ взаимодействия кверцетина с теломерной G-квадруплексной ДНК [22]. В этом исследовании нами было обнаружено, что кверцетин взаимодействует с G-ДНК в области бороздки. При этом он изначально взаимодействует с верхним G-квартетом структуры, после чего происходят конформационные флуктуации, вследствие чего кверцетин перемещается в область бороздки G-квадруплексной ДНК, где и фиксируется. Взаимодействие кверцетина с бороздкой G-ДНК посредством электростатических взаимодействий и стабилизируется как минимум двумя водородными связями.

В сравнении с кверцетином, таксифолин изначально взаимодействует с верхней частью G-ДНК, инициируя конформационные изменения в AAA петле, в частности аденина 26 и аденина 15 (Рис. 1В). Обе молекулы были стабильны в течении 200 нс. симуляции (Рис. 2Е). Основываясь на данные о Ван-дер-Ваальсовых силах (Рис. 1F), электростатических расчетах (Рис. 1G) и анализа возможности формирова-

ния водородных связей (Рис 1H), можно сделать вывод, что взаимодействие таксифолина с G-квадруплексной ДНК по большей части опосредованно электростатическими силами. Для подтверждения конечного сайта связывания таксифолина, симуляция была продлена до 400 нс, в течении которых таксифолин сохраняет свое изначальное положение взаимодействуя с AAA петлей.

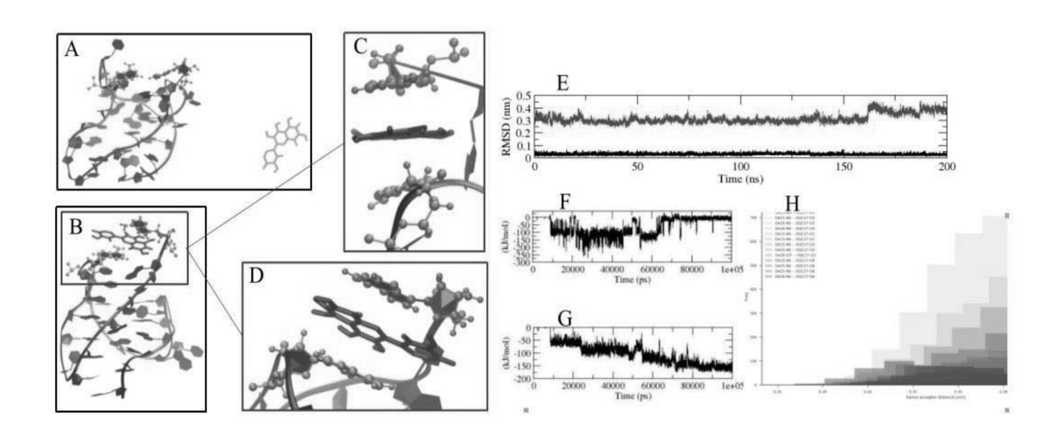


Рисунок 1. A) Начальная точка симуляции; таксифолин (нижний правый угол) в несвязанном состоянии. B) Взаимодействие таксифолина с аденином26 и аденином15.
C и D) Сайт связывания таксифолина на теломерной G-квадруплексной ДНК.
F) Данные о электростатических показателях.
G) Показатели энергии Ван-дер-Ваальса.
H) Возможное формирование водородных связей (1 слабая водородная связь формируется в течении 200 нс).

В данном исследовании, мы провели молекулярно динамическую симуляцию с целью анализа сайта связывания и особенностей взаимодействия таксифолина с внутримолекулярной теломерной G-квадруплексной ДНК человека.
Был идентифицирован сайт связывания таксифолина на G-ДНК и проведен анализ физико-химических характеристик взаимодействия.

Одной из важнейших проблем в подобных исследованиях выступает низкая селективность низкомолекулярных лигандов по отношению к G-квадруплексной ДНК. G-квадруплекс связывающие лиганды также взаимодействую с B-формой ДНК, зачастую посредством интеркаляции, что приводит к цитотоксичности. Благодаря структурным особенностям G-квадруплексной ДНК, лиганды могут взаимодействовать с данными структурами отличными от интеркаляции путями. Например, посредством стекинга в верхней или нижней части структуры, а также посредством взаимодействия с петлями и др. Таксифолин (дегидрокверцетин) является структурным аналогом кверцетина, однако небольшая модификация химической структуры таксифолина повышает селективность данного соединения по отношению к G-квадруплексным структурам и приводит к более низким показателям цитотоксичности. Полученные данные подчеркивают необходимость поиска и дизайна низкомолекулярных лигандов, которые обладают возможностью к взаимодействию с G-квадруплексными структурами отличными от интеркаляции путями, что имеет первостепенную значимость для селективности и низко токсичности этих соединений.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Blackburn E.H.*, *Elissa S. Epel, Jue Lin*. Human telomere biology: a contributory and interactive factor in aging, disease risks, and protection. Science, *350*, 6265, 1193–1198, 2015.
2. *Epel E.S.*, *Blackburn, E. H., Lin, J., Dhabhar F.S., Adler N.E., Morrow, J.D., Cawthon, R.M.* Accelerated telomere shortening in response to life stress. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, *101*, 49, 17312–17315, 2004.
3. *Harley C.B., Villeponteau B.* Telomeres and telomerase in aging and cancer. Current opinion in genetics & development, *5,* 2, 249–255, 1995.

4. *Han H., Hurley, L.H.* G-quadruplex DNA: a potential target for anti-cancer drug design. Trends in pharmacological sciences, 21, 4, 136–142, 2000.
5. *Johnson L.A., Byrne H.M., Willis A.E., Laughton C.A.* An integrative biological approach to the analysis of tissue culture data: application to the antitumor agent RHPS4. Integrative Biology, 3, 8, 843–849, 2011.
6. *Mulholland K., Siddiquei F., Wu C.* Binding modes and pathway of RHPS4 to human telomeric G-quadruplex and duplex DNA probed by all-atom molecular dynamics simulations with explicit solvent. Physical Chemistry Chemical Physics, *28,* 19, 18685–18694, 2017.
7. *Makena Patrudu, S. Pierce Samuel C., Chung King-Thom, Sinclair, Scott E.* Comparative mutagenic effects of structurally similar flavonoids quercetin and taxifolin on tester strains Salmonella typhimurium TA102 and Escherichia coli WP-2 uvrA. Environmental and Molecular Mutagenesis, 50, 6, 451–9, 2009.
8. *Brusselmans K., Vrolix R., Verhoeven G., Swinnen, J.V.* Induction of cancer cell apoptosis by flavonoids is associated with their ability to inhibit fatty acid synthase activity. Journal of Biological Chemistry, 280, 7, 5636-5645, 2005.
9. *Drygin, D., Siddiqui-Jain, A., O'Brien, S., Schwaebe, M., Lin, A., Bliesath, J., Ho C. B., Proffitt C., Trent K., Whitten J.P., Lim, J.K.* Anticancer activity of CX-3543: a direct inhibitor of rRNA biogenesis. Cancer research, 69, 19, 7653–7661, 2009.
10. *Yang D., Okamoto K.* Structural insights into G-quadruplexes: towards new anticancer drugs. Future medicinal chemistry, 2, 4, 619–646, 2010.
11. *Dai J., Carver M., Yang, D.* Polymorphism of human telomeric quadruplex structures. Biochimie, *90,* 8, 1172–1183, 2008.
12. *Mulholland, K., Siddiquei, F., Wu, C.* Binding modes and pathway of RHPS4 to human telomeric G-quadruplex and duplex DNA probed by all-atom molecular dynamics simulations with explicit solvent. Physical Chemistry Chemical Physics, 28, 19, 18685–18694, 2017.
13. *Bernstein F.C., Koetzle T.F., Williams G.J., Meyer E.F., Brice, M.D., Rodgers J.R., Kennard O., Shimanouchi T., Tasumi, M.* The Protein Data Bank: a computer-based archival file for macromolecular structures. Journal of molecular biology, 112, 3, 535–542, 1977.

14. *Dai J., Punchihewa C., Ambrus A., Chen D., Jones R.A., Yang D.*Structure of the intramolecular human telomeric G-quadruplex in potassium solution: a novel adenine triple formation. Nucleic acids research*, 35,* 7, 2440–2450, 2007.
15. *Bolton E.E., Wang, Y., Thiessen P.A., Bryant, S.H.* PubChem: integrated platform of small molecules and biological activities. In Annual reports in computational chemistry 4. PP. 217–241. Elsevier, 2008.
16. *da Silva A.W. S., Vranken W.F.* ACPYPE-Antechamber python parser interface. BMC research notes, *5*, 1, 367, 2012.
17. *Wang J., Wolf R.M., Caldwell J.W., Kollman P.A., Case, D.A.* Development and testing of a general amber force field. Journal of computational chemistry, *25*, 9, 1157–1174, 2004.
18. *Humphrey W., Dalke A., Schulten* K. VMD: visual molecular dynamics. Journal of molecular graphics, *14*, 1, 33-38, 1996.
19. *Hunter J.D.* Matplotlib: A 2D graphics environment. Computing in science & engineering, 9, 3, 90–95, 2007.
20. *Hess B., Kutzner C., Van Der Spoel, D., Lindahl, E.* GROMACS 4: algorithms for highly efficient, load-balanced, and scalable molecular simulation. Journal of chemical theory and computation*, 4,* 3, 435–447, 2008.
21. *Lindorff-Larsen, K., Piana, S., Palmo K., Maragakis P., Klepeis, J.L., Dror R.O., Shaw, D.E.* Improved side-chain torsion potentials for the Amber ff99SB protein force field. Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics, *78*, 8, 1950–1958, 2010.
22. *Hunanyan L., Grabski H., Chilingaryan G., Vardapetyan H.* Identification of possible binding sites of quercetin with telomeric G-quadruplex DNA. Vestnik – RAU (2016). PP.128–134.

TAXIFOLIN INTERACTION WITH HUMAN TELOMERIC G-QUADRUPLEX DNA HYBRID FORM BASED ON MOLECULAR DYNAMIC SIMULATIONS

G. Chilingaryan, N. Abelyan

ABSTRACT

G-quadruplex stabilizing ligands have demonstrated their capability to decrease cell growth *in vitro* and *in vivo* cancer models. After more than a decade of investigations aimed at targeting telomeric G-quadruplexes, the development of G-quadruplex-based binding ligands has progressed slowly with only one candidate making it to clinical trials. The most urgent problems are the lack of high-resolution structural data for many G-quadruplex forms and small molecules' low selectivity.

One 400 ns molecular dynamics simulation of the taxifolin interactions with hybrid form of human telomeric G-quadruplex DNA was conducted. Binding modes of ligands were identified. Energetic parameters and hydrogen bonds formations were calculated. The interaction of taxifolin with G-quadruplex loop is an obvious example how a slight difference between chemical compounds could define binding mode.

Keywords: G-quadruplex, telomeres, molecular dynamic simulation, cancer.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Абелян Н.Н. студент пятого курса Института биомедицины и формации по специальности «Биоинженерия и биоинформатика» РАУ

Аветисян К.И. студент четвертого курса Института математики и информатики по направлению подготовки «Прикладная математика и информатика» РАУ

Айвазян Н.М. д.б.н., директор Института физиологии им. Л. Орбели НАН РА

Акопян Н.П. аспирант кафедры системного программирования РАУ

Арутюнян А.А. лаборант лаборатории аналитической биохимии и биотехнологии РАУ

Вечер О.В. к.ф.-м.н., доцент Ставропольского государственного медицинского университета

Габриелян Л.С. к.б.н., доцент кафедры медицинской биохимии и биотехнологии РАУ

Геворгян Т. А. студент шестого курса Института биомедицины и фармации по специальности «Медицинская биохимия» РАУ

Гукасян Ц. магистрант второго года обучения Института математики и информатики по направлению подготовки «Прикладная математика и информатика» РАУ

Дискаева Е.И. к.ф.-м.н., заведующая кафедрой физики и математики Ставропольского государственного медицинского университета

Киракосян Г. к.б.н., научный сотрудник Института физиологии им.Л.Орбели НАН РА

Кочарян А.С.	аспирант Института проблем информатики и автоматизации НАН РА
Манукян А.Э.	научный сотрудник базовой темы ГК МОН РА № 10-2/I-1.
Оганесян А.А.	к.б.н., доцент, заведующая кафедрой медицинской биохимии и биотехнологии РАУ
Оганян С. А.	студент шестого курса Института биомедицины и фармации по специальности «Медицинская биохимия»
Петросян М.С.	лаборант лаборатории аналитической биохимии и биотехнологии РАУ
Рштуни Л.Р.	лаборант лаборатории биохимии РАУ
Саргсян А.М.	аспирант Научного центра зоологии и гидроэкологии НАН РА
Тимотина М.И.	студент четвертого курса Института биомедицины и фармации по специальности «Медицинская биохимия»
Трчунян А.А.	д.б.н., профессор, член-корреспондент НАН РА, профессор кафедры биофизики ЕГУ, профессор кафедры медицинской биохимии и биотехнологии РАУ
Фарсиян Л.М.	лаборант кафедры медицинской биохимии и биотехнологии
Хачатрян А.А.	к.ф.-м.н., ассистент кафедры высшей математики и теоретической механики Армянского национального аграрного университета
Хачатрян А.Х.	д.ф.-м.н., профессор, зав.кафедрой высшей математики и теоретической механики Армянского национального аграрного университета

Хачатрян Х.А.	д.ф.-м.н, старший научный сотрудник Института математики НАН РА
Чилингарян Г.В.	научный сотрудник базовой темы ГК МОН РА
Шмавонян А.А.	магистрант второго года обучения Института математики и информатики по направлению подготовки «Прикладная математика и информатика»
Эльбекьян К.С.	д.б.н., заведующая кафедрой общей и биологической химии Ставропольского государственного медицинского университета

СОДЕРЖАНИЕ

МАТЕМАТИКА И ИНФОРМАТИКА

БИОЛОГИЯ

Главный редактор РНИ *– М.Э. Авакян*
Редактор *– Э.А Рухкян*
Корректор *– М.Р. Тадевосян*
Компьютерная верстка *– А.Г. Антонян*

Адрес Редакции научных изданий
Российско-Армянского
университета:

0051, г. Ереван, ул. Овсепа Эмина, 123
тел/факс: (+374 10) 27-70-52 (внутр. 42-02)
e-mail: redaction.rau@gmail.com

Заказ № 15
Подписано к печати 01.05.2019г.
Формат 70х100$^{1}/_{16}$. Бумага офсетная № 1.
Объем 10.5 усл. п.л. Тираж 200 экз.